

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"**



**DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE  
E PATOLOGIA DELL'INVECCHIAMENTO CEREBRALE**

**XVIII CICLO**

**TESI DI DOTTORATO**

**STUDIO CLINICO, NEUROPSICOLOGICO E  
GENETICO NELLE PARAPARESI SPASTICHE  
EREDITARIE E NELLA SINDROME DI  
TREMORE E ATASSIA ASSOCIATI  
ALL'X-FRAGILE**

**COORDINATORE:**

**Chiar.mo Prof. Lucio Annunziato**

**CANDIDATO:**

**Dr.ssa Valentina Scarano**

**TUTORE:**

**Prof. Alessandro Filla**

**Anno Accademico 2005/2006**

## INDICE

1. Paraparesi spastiche ereditarie: studio clinico, neuropsicologico e genetico di una casistica. Introduzione.....	pag.3
Revisione della casistica.....	pag.8
Screening delle famiglie con paraparesi spastica autosomica dominante per mutazioni del gene di spastina ( <i>SPG4</i> ).....	pag.9
Screening delle famiglie con paraparesi spastica autosomica dominante ad esordio precoce per mutazioni del gene di atlastina ( <i>SPG3A</i> ).....	pag.15
Studio delle famiglie con paraparesi spastica autosomica recessiva ed ipoplasia del corpo calloso.....	pag.18
Studio neuropsicologico di pazienti con paraparesi spastica ereditaria molecularmente identificata; valutazione delle caratteristiche neuropsicologiche di una famiglia con mutazione del gene di paraplegina ( <i>SPG7</i> ).....	pag.22
 2. Sindrome di tremore ed atassia associati all’X-fragile: screening di una serie di pazienti con atassia idiomatica dell’adulto per premutazione del gene <i>FMRI</i> .....	pag.31
 Bibliografia parte 1.....	pag.38
Bibliografia parte 2.....	pag.48
 Prodotti.....	pag.54
Ringraziamenti.....	pag.55
 Tabelle e figure	

La tesi in oggetto si compone di due parti:

1. Studio delle paraparesi spastiche ereditarie
2. Studio della sindrome di tremore e atassia associati all'X-fragile

## **1. Paraparesi spastiche ereditarie: studio clinico, neuropsicologico e genetico di una casistica**

### **Introduzione**

Le paraparesi spastiche ereditarie (Hereditary Spastic Paraplegia, HSP) sono un gruppo eterogeneo di malattie neurodegenerative caratterizzate da ipostenia progressiva e spasticità agli arti inferiori. La lesione patologica principale riguarda il tratto corticospinale. Gli assoni che lo compongono sono particolarmente lunghi, talora anche superiori ad un metro, con un volume assonale che può essere mille volte superiore a quello del pirenoforo. I neuroni del tratto corticospinale forniscono un esempio estremo delle difficoltà dei processi cellulari, quali 'trafficking', trasporto e metabolismo energetico.

Le HSP sono clinicamente e geneticamente eterogenee. Da un punto di vista clinico si dividono in forme pure in cui sono presenti segni piramidali, quali riflessi osteotendinei vivaci, segno di Babinski, spasticità e deficit motorio, che possono essere associati con deficit delle sensibilità profonde o disturbi sfinterici. Le forme complesse consistono di una moltitudine di entità cliniche in cui la paraparesi è variabilmente associata con numerose combinazioni di altri segni neurologici ed extraneurologici quali atassia cerebellare, disartria, ritardo mentale, neuropatia periferica, atrofia ottica, retinite pigmentosa, disturbi dell'udito e assottigliamento del corpo calloso.

La genetica molecolare ha mostrato un'inattesa eterogeneità (tabelle 1 e 2). Finora sono stati mappati trentuno differenti loci (SPG), e 13 geni responsabili sono stati identificati; alcuni di questi sono coinvolti nel traffico assonale o nel metabolismo mitocondriale. Per le forme recessive (AR) sono stati identificati 14 loci (*SPG5A*, 7, 11, 14, 15, 20, 21, 23-28, 30); per le forme dominanti (AD) 14 (*SPG3A*, 4, 6, 8-10, 12, 13, 17, 19, 12q, 29, 31, 33); per le forme X-legate (XL) tre loci (*SPG1-2*, 16). Il fenotipo prevalente nelle forme AD è quello di una paraparesi spastica pura, mentre le forme recessive ed XL sono più spesso complicate. Finora sono stati clonati 13 geni: tre per le forme recessive, otto per le forme dominanti e due per le forme X-legate.

Circa il 40% delle forme AD può essere attribuito a due loci maggiori, *SPG4* e *SPG3A*. *SPG4* codifica per spastina, una proteina di 616 AA appartenente al gruppo delle AAA (ATPasi associate con altre attività cellulari). Le proteine AAA sono coinvolte in un'ampia varietà di processi cellulari, quali il ciclo cellulare, il trasporto vescicolare, la funzione mitocondriale, la biogenesi dei perossisomi, e la proteolisi. Mutazioni nonsense, frameshift, delezioni, missense sono state tutte ritrovate nei pazienti *SPG4* e sono generalmente caratterizzate da un fenotipo clinico non distinguibile, suggerendo che le basi molecolari della malattia risiedono nella aploinsufficienza (Tallaksen et al, 2001; Reid, 2003). *SPG3* è la seconda forma più comune di HSP dopo *SPG4*, riscontrandosi nel 10% delle famiglie con HSP-AD pura. Il gene *SPG3A* comprende 14 esoni per circa 69 Kb e codifica per atlastina. Questa proteina ha un alto grado di omologia con la guanylate binding protein 1 (GBP1), un membro della superfamiglia delle dinamine, che fanno parte delle GTPasi. È stato recentemente dimostrato che le dinamine si associano con le vescicole e con gli endosomi e mediano attivamente i processi di trasporto intracellulare (Mc Niven et al, 2000).

Altri geni e prodotti proteici sono stati identificati nelle HSP-AD. Nella forma *SPG6* sembra essere coinvolto un trasportatore/recettore con 9 domini transmembrana, NIPA1 (Rainier et al, 2003). Nella forma *SPG10* è coinvolta KIF5A, una proteina implicata nel trasporto di organelli membranosi negli assoni, espressa solo nei neuroni; le mutazioni di questo gene prevengono l'attivazione dell'ATPasi motoria che porta al legame dei microtubuli (Reid et al, 2002). Nella forma *SPG13* è coinvolta HSPD1, una chaperonina implicata nel folding e nell'assemblaggio di proteine localizzata nella matrice mitocondriale (Fontaine et al, 2000; Hansen et al, 2002). Nella forma *SPG17* è mutato il gene BSCL2, responsabile della sintesi di Seipina, una proteina integrale della membrana del reticolo endoplasmatico, coinvolta anche in altre patologie, tra cui una neuropatia motoria distale ereditaria (Silver 1966; Patel 2001; Windpassinger et al, 2003). In *SPG31* le mutazioni sono a carico di REEP1, che codifica per una proteina di membrana, mitocondriale, ubiquitaria, coinvolta nel trasporto di vescicole Rab-mediato, con attività tipo chaperone (Zuchner et al, 2006). In *SPG33* è coinvolto ZFYVE27, il cui prodotto interagisce con spastina e sembra essere coinvolto nel corretto assetto tubulare (Mannan et al, 2006).

Tra le HSP-AR, *SPG5*, *SPG24* e *SPG28* sono forme pure (Hentati et al, 1994; Hodgkinson et al, 2002; Meijer et al, 2004; Bouslam et al, 2005). *SPG7* ed *SPG27* (De Michele et al, 1998;

Casari et al, 1998; Mejer et al, 2004) possono presentarsi come forme pure o complicate. Le rimanenti forme di HSP-AR, *SPG11*, *SPG14*, *SPG15*, *SPG20*, *SPG21*, *SPG23*, *SPG25*, *SPG26*, *SPG30* hanno un fenotipo complicato (Martinez Murillo, 1999; Vazza et al, 2000; Hughes et al, 2001; Patel et al, 2002; Simpson et al, 2003; Blumen et al, 2003; Zortea et al, 2002; Wilkinson et al, 2005; Klebe et al, 2006).

La forma più frequente di HSP-AR sembra essere *SPG11*, paraparesi spastica con ipoplasia del corpo calloso (HSP-AR-TCC), un disordine neurodegenerativo caratterizzato da ritardo mentale e paraparesi spastica lentamente progressiva complicata da neuropatia periferica. La malattia esordisce nella seconda decade di età. La caratteristica neuroradiologica della sindrome è l'assottigliamento della parte anteriore del corpo calloso (Thin Corpus Callosum, TCC) e le alterazioni della sostanza bianca, che in genere si verificano nel corso della malattia (Iwabuchi et al, 1994). La prima identificazione di un locus per questa condizione, denominato *SPG11* sul cromosoma 15q13-15 in famiglie nord-americane e giapponesi con HSP-AR-TCC (Martinez Murillo et al, 1994; Shibasaki et al, 2000) è stata confermata in 5 famiglie italiane (Casali et al, 2004) ed in due famiglie consanguinee arabo-israeliane (Lossos et al, 2006), restringendo la regione cromosomica minima ad un intervallo di 13.6 cM e dimostrando l'eterogeneità genetica della condizione. Tuttavia il gene responsabile rimane ancora ignoto. Dopo l'identificazione del locus *SPG11*, sono state descritte ulteriori famiglie di differenti etnie dell'Europa occidentale, Sud-America, Asia e Medio-Oriente (Teive et al, 2001; Kang et al, 2004; Sperfeld et al, 2004; Tang et al, 2004; Winner et al, 2004, Brockmann et al, 2005; Winner et al, 2005) suggerendo che questa particolare patologia non è rara come inizialmente si credeva, e che la sua frequenza nei paesi occidentali potrebbe essere sottostimata. Inoltre una certa proporzione di individui con HSP-TCC sono casi singoli, ed è possibile che il disordine sia alla base di una significativa proporzione di casi apparentemente sporadici. Va ricordato che l'ipoplasia del corpo calloso può essere associata anche ad altre forme di HSP, fra cui quelle legate ad *SPG4*, *SPG7* ed *SPG21* (Coutinho et al, 1999; Orlacchio et al, 2004; Simpson et al, 2003).

Nelle HSP-AR sono stati inoltre individuati tre geni: *SPG7*, *SPG20* e *SPG21*. Il prodotto di *SPG7*, paraplegina, è una proteina mitocondriale analoga a metalloproteasi del lievito, con attività proteolitica e tipo chaperone a livello della membrana mitocondriale interna, coinvolta nell'assemblaggio di proteine e nel turnover di proteine mis-tradotte e mis-folded. *SPG20*

codifica per spartina, una proteina con analogia di sequenza per spastina, coinvolta nel traffico di proteine e forse associata a microtubuli. *SPG21* codifica per maspardina, una proteina localizzata negli endosomi e nelle vescicole di trasporto del Golgi, probabilmente implicata nel trasporto e nel corretto 'indirizzamento' di proteine.

Da quanto su esposto emerge che, anche se le proteine hanno funzioni differenti, si iniziano a intravedere delle possibili vie comuni di neurodegenerazione nelle HSP: compromissione di chaperonine mitocondriali (paraplegina/*SPG7* e heat shock protein 60/*SPG13*, REEP1/*SPG31*) o del trafficking e trasporto molecolare (KIF5A/*SPG10*, spastina/*SPG4*, atlastina/*SPG3A*, spartina/*SPG20*, maspardina/*SPG21*, ZFYVE27/*SPG33*).

Dal punto di vista clinico, nelle forme complicate uno dei segni 'plus' ricorrenti è rappresentato dalla presenza di deficit cognitivi che possono manifestarsi come ritardo mentale o come declino delle capacità cognitive già acquisite. Il ritardo mentale è stato descritto come una caratteristica delle forme complicate *SPG 1, 2, 11, 14, 15, 20, 23, 26*. Sebbene la demenza sia stata riportata in associazione con *SPG 2, 15, 21*, la maggior parte degli studi disponibili sul declino cognitivo in HSP è relativa, nel periodo precedente all'avvento della genetica molecolare, a pazienti con HSP-AD con fenotipo puro e, dopo la classificazione genetica delle HSP, alla forma *SPG4*.

Non sono stati finora riportati deficit cognitivi nei pazienti con *SPG7*.

Prima della classificazione genetica delle HSP, la presenza di deterioramento cognitivo è stata associata con forme di HSP pure (Dimitrijevic et al, 1982; Tedeschi et al, 1991; Dürr et al, 1994), in cui sarebbe esistita una correlazione del deficit cognitivo con l'età, ma non con la gravità della malattia (Webb et al, 1996).

In seguito alla classificazione molecolare delle HSP, si è stabilito che, tra le forme pure, *SPG4* è quella maggiormente correlata a deficit cognitivi (Webb et al, 1996; Webb, Coleman et al, 1998; Webb e Hutchinson, 1998; Hazan et al, 1999; White et al, 2000; Byrne et al, 2000; Tallaksen et al, 2003; McMonagle et al, 2004).

Il tipo di deficit cognitivo individuato nella forma *SPG4* è stato ritenuto simile a quello di una demenza sottocorticale, con assenza di afasia, agnosia e acalculia, ma presenza di difficoltà nel processo di acquisizione di informazioni e di scelta delle strategie adeguate nella risoluzione di problemi.

In singoli pazienti *SPG4* con deficit cognitivi in cui è stato effettuato uno studio anatomopatologico (White et al, 2000) sono stati osservati reperti anatomopatologici inusuali: oltre alle alterazioni del midollo spinale, causa della disfunzione motoria, sono stati infatti descritti perdita neuronale, gomitoli neurofibrillari tau-positivi, senza placche senili, nell'ippocampo, e degenerazione granulovacuolare nella corteccia limbica e nella neocorteccia. Il deficit cognitivo nella forma *SPG4* è stato ritenuto anche un possibile primo sintomo della malattia (Byrne et al, 2000): pazienti portatori della mutazione, non sintomatici per manifestazioni motorie, avrebbero punteggi più bassi alle valutazioni neuropsicologiche rispetto a soggetti di controllo.

Una valutazione longitudinale dei deficit cognitivi in *SPG4* (McMonagle et al, 2004) ha mostrato la progressione dei deficit in un gruppo di pazienti osservati in un periodo di circa 3 anni.

Da altri studi sulle funzioni cognitive in *SPG4* (Tallaksen et al, 2003) non emerge una vera e propria demenza, ma un modesto deficit delle funzioni esecutive, correlato con la gravità della disfunzione motoria, ma non con l'età.

Lo studio presente ha avuto l'obiettivo di definire meglio le caratteristiche cliniche e genetiche della casistica di HSP e si è svolto sui seguenti punti:

1.1 Revisione della casistica

1.2 Screening delle famiglie dominanti per mutazioni del gene di spastina (*SPG4*)

1.3 Screening delle famiglie dominanti ad esordio precoce per mutazioni del gene di atlastina (*SPG3A*)

1.4 Studio delle famiglie con paraparesi spastica recessiva ed ipoplasia del corpo calloso

1.5 Studio neuropsicologico di una casistica di pazienti con HSP molecularmente identificata; valutazione delle caratteristiche neuropsicologiche di una famiglia con mutazione del gene di paraplegina (*SPG7*).

### 1.1 Revisione della casistica

La casistica delle HSP afferenti all'ambulatorio per le atassie e le paraparesi spastiche ereditarie del Policlinico Federico II è composta da 26 famiglie con ereditarietà autosomica dominante e 26 famiglie ad ereditarietà autosomica recessiva; in un'ulteriore famiglia non è possibile escludere una trasmissione di tipo X-legato.

Nel gruppo delle HSP-AD 7 famiglie presentano una forma molecularmente identificata: in 5 famiglie è stata riscontrata una mutazione del gene *SPG4*, in una famiglia una mutazione del gene *SPG3A*; una famiglia risulta associata con il locus *SPG9*. Complessivamente 6 famiglie sono 'complicate', mentre nelle restanti la HSP è pura. Le caratteristiche cliniche e strumentali delle famiglie sono riassunte nella tabella 3. Nel gruppo delle HSP-AR in due famiglie è stata identificata una mutazione del gene di paraplegina, *SPG7*; in 2 famiglie non è possibile escludere il linkage con la forma *SPG5*; in 9 famiglie il fenotipo è complicato dalla presenza di corpo calloso sottile e in 2 di queste lo studio di linkage è risultato positivo per il locus *SPG11*. Complessivamente il fenotipo è risultato del tipo 'complicato' in 14 famiglie recessive. Le caratteristiche cliniche e strumentali sono riassunte nella tabella 4.



## **1.2 Screening delle famiglie con paraparesi spastica autosomica dominante per mutazioni del gene di spastina (*SPG4*): analisi mutazionale mediante DHPLC del gene *SPG4***

### *Premessa*

Circa il 40% delle HSP-AD può essere attribuito a due loci maggiori, *SPG4* e *SPG3A*.

I pazienti con HSP ad eredità provata o sospettata di tipo dominante sono frequentemente inviati ai laboratori per ottenere conferma genetica della loro diagnosi. La considerevole variabilità genetica e fenotipica preclude tuttavia un facile test diagnostico. Perciò per lo screening iniziale dovrebbe essere utilizzato un approccio efficace e di basso costo. Con lo scopo di sviluppare un test genetico molecolare per analizzare pazienti e carriers e per determinare lo spettro delle mutazioni abbiamo partecipato alla creazione di un protocollo DHPLC per screenare l'intero gene *SPG4* in famiglie ad eredità dominante. Il protocollo basato su DHPLC ha anche consentito di identificare 11 nuove varianti genetiche.

### *Materiali e metodi*

#### *Pazienti*

Un totale di 55 probandi da famiglie non imparentate con diagnosi di HSP ricevuta in diversi centri italiani sono stati analizzati. Tutti i pazienti sono stati valutati da almeno due neurologi esperti. Un'ereditarietà dominante con trasmissione da maschio a maschio era presente in tutti i pazienti, 49 dei quali avevano HSP pura. I rimanenti 6 pazienti avevano caratteristiche aggiuntive: polineuropatia era presente in tre casi, e segni cerebellari, disartria e alterazioni cognitive erano presenti negli altri. Tutte le altre cause note di paraparesi spastica sono state escluse dagli appropriati test clinici, radiologici e biochimici (Tallaksen et al, 2001). Un totale di 23 parenti affetti o carrier obbligati della stessa famiglia sono stati indagati dopo che la mutazione è stata identificata nel probando. Sono stati anche analizzati 19 pazienti non imparentati che presentavano paraparesi spastica senza una chiara storia familiare, come se potesse trattarsi di pazienti con eredità dominante con bassa penetranza (Fink, 2002). Infatti è stato dimostrato che circa l'1.5% dei pazienti sporadici hanno mostrato mutazioni in *SPG4* (Sauter et al, 2002). Un fenotipo puro era presente in 17 soggetti; dei 2 rimanenti uno aveva alterazioni della sostanza bianca periventricolare e l'altro disartria e atassia del tronco.

#### *Analisi genetica*

Il DNA è stato estratto dai leucociti periferici secondo le procedure standard. Non erano disponibili precedenti dati di linkage. I primers sono stati disegnati per amplificare l'intera regione di *SPG4*, includendo l'esone 4, soggetto a splicing alternativo e confini esone-introne. L'esone 1 è stato amplificato come due frammenti separati usando un protocollo PCR con polimerasi ricche di GC. Le dimensioni dei prodotti di PCR andavano da 173 a 390. Dopo l'amplificazione i frammenti sono stati sottoposti a DHPLC. I criteri più importanti per assegnare la presenza di un'alterazione della sequenza nei frammenti DHPLC erano il numero e la forma dei picchi di eluizione paragonati con sequenze wild-type. Un pannello di 300 cromosomi di controllo etnicamente appaiati è stato screenato per PCRRFLP, DHPLC o entrambe.

### *Risultati*

Un totale di 21 differenti cambi eterozigoti sono stati individuati nelle regioni codificanti o nei siti di splicing; 11 di questi sono nuove mutazioni mentre le altre 10 sono già state riportate (tabella 5).

Sono stati identificati anche 3 polimorfismi eterozigoti. La nomenclatura delle mutazioni si riferisce alla sequenza di c-DNA con la A del codone di inizio della traduzione indicata come +1. La figura mostra un esempio di anormale profilo di eluizione e i relativi elettroferogrammi (figura 1).

Sono state individuate 2 nuove mutazioni missense. La nuova c.334G (p.Glu112Lys) si verifica nell'esone 1 e riguarda un residuo moderatamente conservato in una regione di significato funzionale ignoto; una differente mutazione (c.334G>T, p.Glu112X) era già stata riscontrata allo stesso aminoacido (Hentati et al, 2001). La c.1376G>C (p.Arg459Thr) colpisce un residuo all'interno il dominio AAA altamente conservato della proteina spastina (Hazan et al, 1999). Un cambio che sostituisce l'aminoacido polare arginina con l'aminoacido non polare treonina sembra alterare la struttura secondaria della spastina. Le due mutazioni missense sono state ritenute patogenetiche per ragioni indirette: segregano con la malattia all'interno della famiglia; non sono state riscontrate in 300 cromosomi di controllo; le mutazioni coinvolgono residui che sono conservati nella spastina umana e murina e in altre proteine correlate.

Le rimanenti nuove mutazioni sono chiaramente patogenetiche in quanto conducono ad un codone di stop, a frameshift e interruzione prematura della traduzione (c.1270\_1271dupAG

che risulta in p.Gly425fs) o a delezione di singoli residui (c.1335\_1357delAAG, che risulta in p.Glu452). Infine due nuove mutazioni colpiscono i siti di giunzione di splicing (c.1413+g>A e c.1493+2\_1493+5insATGG), presumibilmente producendo lo slittamento di esoni multipli come altrove riportato (Patrono et al, 2002).

Fra le alterazioni già riportate abbiamo individuato 5 varianti missense (c.1270>G, c.1276C>G, c.1307C>T, c.1379G>T, c.1667C>T, che risultano in p.Arg424Gly, p.Leu426Val, p.Ser463Phe, p.Arg460Leu, a pAla556Val), una mutazione nonsense (c.1291C>T, p.Arg431X), un frameshift (c.1215\_1219del TATAA, che porta a p.Asn405fs), riscontrata in due famiglie, e tre mutazioni che colpiscono i siti di consenso per lo splicing (c.1413+3\_1413+6del AAGT, c.1536+1G>T e c.1728+1G>A) (Fonknechten et al, 2000; Hentati et al, 2000; White et al, 2000). La mutazione c.1728+1G>A è stata identificata in tre famiglie apparentemente non correlate che originavano dalla stessa area geografica del sud Italia, ma negavano una parentela formale tra di loro.

Dei 23 parenti indagati abbiamo trovata la relativa mutazione in 18, 5 dei quali erano asintomatici al momento dell'analisi. Il concetto che le mutazioni di *SPG4* hanno una penetranza differente talvolta bassa è ben acclarato (Tallaksen et al, 2001).

Tutte le mutazioni patogenetiche sono state trovate in pazienti con HSP-AD, sebbene un cambio (p.Gly425fs) sia stato identificato in un individuo con malattia apparentemente sporadica che presentava piede cavo, segni piramidali e deambulazione spastica dai 20 anni. Nessuno dei parenti era portatore della mutazione. Comunque, tre individui nelle generazioni precedenti avevano piede cavo e dita a martello.

In questo studio abbiamo identificato due nuovi polimorfismi (c.397A>C che causa p.Ile133Leu nell'esone 1 e il cambio intronico c.1099-45G>A), associati con mutazioni di spastina riportate in due famiglie e una duplicazione polimorfica già descritta nell'introne 11 (1413+42\_45dupTATA) in due famiglie non correlate (Proukakis et al, 2003). Questi cambi sono stati considerati varianti neutrali dal momento che sono stati individuati anche nei controlli (15-30% degli alleli normali). Nessuno dei pazienti presentava varianti *SPG4* (p.Ser44Phe e p.Pro45Gln) considerate modificatrici del fenotipo clinico (Svenson et al, 2001; Svenson et al, 2004).

## *Discussione*

Negli ultimi anni DHPLC è emersa come una delle tecnologie più flessibili per l'analisi delle variazioni genetiche. L'abilità della DHPLC di identificare mutazioni già note e ignote è utile per molte malattie. Si dimostra particolarmente utile in caso di geni grandi e quando la frequenza di mutazioni non comuni e private richiede l'utilizzo di tecniche di scanning ottimizzate. Il presente lavoro corrobora l'uso della DHPLC per l'analisi del gene *SPG4*.

Le nostre analisi hanno portato all'individuazione di 11 nuove mutazioni in *SPG4* e 10 che erano già state riportate (Fonknechten et al, 2000; Hentati et al 2000; White et al, 2000). Tutto ciò è in accordo con i report precedenti in cui è evidente che il numero di mutazioni private è elevato (Tallaksen et al, 2001). Tuttavia, abbiamo trovato la mutazione c.1728+1G>A in tre famiglie apparentemente non correlate: questa mutazione era già stata descritta in un'altra famiglia italiana (Santotelli et al, 2000). A nostra conoscenza questa mutazione è la più frequente variante di *SPG4* finora riportata in Italia. Diversamente, potrebbe correlarsi ad un precedente ed ignoto effetto fondatore.

I dati clinici disponibili per i pazienti nel nostro studio non permettono un'agevole correlazione genotipo-fenotipo. Si è già visto che queste correlazioni sono difficili per *SPG4* (Lindsey et al, 2000; McMonagle et al, 2000; Mead et al, 2001). Complessivamente l'esordio di malattia, la progressione e la severità all'ultimo esame neurologico non sono differenti fra i pazienti con mutazioni missense, nonsense, in/del, mutazioni del sito di splicing, un risultato questo che correla bene con precedenti studi (Yip et al, 2003). In particolare, il quadro clinico non era influenzato dalla lunghezza del prodotto genico residuo predetto. Questo è particolarmente ovvio quando consideriamo un paziente con la mutazione p.Glu125X nell'esone 1 (con una proteina privata dell'80% della propria sequenza) e un paziente che ha la mutazione c.Trp607X, con una proteina che dovrebbe mancare degli ultimi 9 aminoacidi della sua coda. Entrambi i pazienti hanno severi deficit neurologici, iniziati dopo i 40 anni e mostrano simile progressione. Ulteriori fattori genetici ed epigenetici potrebbero essere chiamati in causa per spiegare questa imperfetta correlazione.

Con l'esclusione di un paziente, non abbiamo riscontrato mutazioni in soggetti senza una chiara ereditarietà dominante, il che suggerisce che il test per *SPG4* non dovrebbe essere utilizzato per pazienti sporadici. Inoltre sono state riscontrate mutazioni in fenotipi complicati di HSP. Questo è in accordo con report precedenti in cui mutazioni di *SPG4* conducono

prevalentemente ad HSP pura, sebbene esistano rare eccezioni (Mead et al, 2001; Meijer et al, 2002; Orlacchio et al, 2004). La presenza di alterazioni cognitive non è comunque stata indagata nei nostri casi.

La frequenza complessiva di mutazioni di *SPG4* nel nostro studio era 32.4%, raggiungendo il 46.9% quando erano considerati i pazienti solo con HSP-AD. Questi dati ricadono nel range osservato in differenti popolazioni (Hentati et al, 2000; Patrono et al, 2002; Meijer et al, 2002; Sauter et al, 2002; Burger et al, 2000). Le discrepanze potrebbero riflettere limitazioni delle tecniche diagnostiche utilizzate che non consentono l'individuazione del 100%. In questa ottica il presente studio non esclude nei nostri pazienti la possibilità di grosse delezioni della spastina o anche di mutazioni nella regione del promotore o di altri elementi regolatori (Higgins et al, 2001).

Sia gli studi di omologia strutturale che le evidenze sperimentali suggeriscono che spastina è una proteina multifaccettata, con una funzione complessa dipendente dal tipo cellulare, ciclo cellulare e interattori molecolari (McDermott et al, 2003; Errico et al, 2004; Fink e Rainier, 2004). La spastina appartiene alla sottofamiglia 7 delle proteine AAA, che contiene anche la katanina p60, una proteina di divisione dei microtubuli (McNally e Vale, 1993) e SKD1, un regolatore del traffico degli endosomi. L'N-terminale della spastina è ancora poco caratterizzato ma include il motivo MIT (cioè, un motivo contenuto all'interno di molecole che interagiscono e partecipano al traffico dei microtubuli, un dominio comune a proteine coinvolte nell'endocitosi e nel traffico intracellulare; Reid et al, 2002; Ciccarelli et al, 2003). Una possibile funzione coinvolge la spastina nel rimodellamento dinamico dell'assone adulto ed in crescita (Errico et al, 2002). Il disassemblaggio ed il riasssemblaggio dei microtubuli sono considerati processi critici nel mantenimento del citoscheletro assonale e nel trasporto selettivo e mirato di specifici organelli e macromolecole (Raff et al, 2002). Tutte le mutazioni descritte in questo studio si ritiene alterino il dominio AAA altamente conservato (Gonfalonieri e Duguet, 1995). Una mutazione (p.Glu112Lys) è localizzata al di fuori del dominio AAA ma vicino al dominio MIT. Possiamo speculare che l'allele mutante potrebbe interferire con la funzione MIT, se si assume che l'm-RNA legato a questa mutazione è stabile. Abbiamo anche trovato varianti che tagliano solo la coda della proteina, lasciando integro il dominio AAA e che comunque risultano in un disturbo neurologico progressivo. Sono evidentemente necessari nuovi studi della parte carbossi-terminale di spastina.

Per riassumere, la tecnica DHPLC si è dimostrata un metodo rapido per l'analisi di *SPG4* in pazienti con ADHSP e dei loro familiari. La specificità e la riproducibilità di DHPLC sono del 100% . Il presente studio, ha aumentato la lista delle varianti alleliche e ha fornito un efficiente protocollo di basso costo per lo screening mutazionale di *SPG4*.

### **1.3 Screening delle famiglie con paraparesi spastica autosomica dominante ad esordio precoce per mutazioni del gene di atlastina (*SPG3A*): la mutazione R495W nel gene *SPG3A* causa paraparesi spastica associata con neuropatia assonale**

#### *Premessa*

*SPG3A* è la seconda causa più frequente di HSP-AD, dopo *SPG4*. Abbiamo selezionato un gruppo di famiglie negative per mutazioni di *SPG4* per lo screening di mutazioni in *SPG3A* e abbiamo descritto una nuova mutazione missense nell'esone 12.

#### *Pazienti e metodi*

In un gruppo di 25 famiglie con HSP-AD, 4 famiglie sono state screenate per mutazioni di *SPG3A*, usando i seguenti criteri di inclusione: età di esordio <10 anni in almeno un elemento della famiglia, assenza di altre caratteristiche neurologiche ed extraneurologiche tipiche delle HSP complicate, esclusione di altre cause note di HSP. Mutazioni in *SPG4* sono state escluse in tutti i pazienti mediante sequenziamento diretto del gene. I membri affetti sono stati sottoposti ad esame neurologico dettagliato e studi neurofisiologici.

#### *Analisi molecolare*

Dopo consenso informato, il DNA genomico è stato purificato dal sangue periferico secondo le procedure standard. Lo screening per le mutazioni in *SPG3A* è stato effettuato con amplificazione PCR delle sequenze codificanti usando specifiche coppie di primers e con successivo sequenziamento diretto dei frammenti purificati su gel.

#### *Risultati*

##### Pazienti

Tra le famiglie sottoposte a screening una era portatrice di mutazione in *SPG3A*. L'albero della famiglia è mostrato nella figura 2.

Le caratteristiche cliniche ed elettrofisiologiche sono riassunte nelle tabelle 6 e 7.

Il fenotipo clinico era quello di una forma pura di HSP. Tutti i pazienti presentavano ancora una deambulazione autonoma. L'esame neurologico mostrava un marcato ipertono spastico agli arti inferiori, ipostenia, riflessi osteotendinei vivaci e segno di Babinski bilaterale. Erano presenti anche scoliosi e piede cavo. La sensibilità profonda era nella norma. Ipotrofia distale degli arti inferiori era presente solo nel paziente II-1. Gli arti superiori erano risparmiati, e non erano presenti né deficit cognitivi, né disturbi sfinterici.

Lo studio delle velocità di conduzione mostrava una neuropatia assonale sensitivo-motoria, più accentuata agli arti inferiori; l'EMG mostrava un pattern neurogeno nei muscoli esaminati. Il tempo di conduzione centrale dei SSEP dal nervo tibiale era ritardato nel paziente II-2. I BAEP erano alterati solo nel paziente II-2. I PEV erano normali in tutti.

#### Analisi molecolare

Il sequenziamento del gene *SPG3A* nei tre pazienti ha rivelato una nuova mutazione missense eterozigote al nucleotide 1483 della sequenza codificante (figura 2). La mutazione, che cade nell'esone 12, porta alla sostituzione dell'arginina con triptofano al residuo 495 (R495) della porzione C-terminale dell'atlastina. La mutazione non è stata riscontrata in 400 cromosomi di controllo appaiati etnicamente.

#### *Discussione*

Sono state finora descritte 8 mutazioni nel gene *SPG3A* (Dal Pozzo et al, 2003; Muglia et al, 2002; Sauter et al, 2004; Tessa et al, 2002; Zhao, Alvarado et al, 2001). Cinque mutazioni missense (R217Q, R239C, H247P, H258R, S259Y), sono state ritrovate negli esoni 7 e 8, mentre una è localizzata nell'esone 4 (A161P) e una nell'esone 12 (M408V). La mutazione qui riportata è la terza descritta nell'esone 12.

Non è ancora chiaro come le mutazioni di atlastina alterino la proteina. Tra le mutazioni già descritte, R217Q altera direttamente il motivo GTPasi; A161P è localizzata vicino ad un sito di fosforilazione conservato, nell'esone 4. Le altre mutazioni missense cadono al di fuori dei motivi GTPasi o dei motivi conservati nella sequenza di atlastina e si pensa alterino la struttura secondaria/terziaria della proteina. Dati recenti suggeriscono che atlastina è espressa principalmente nei neuroni piramidali della corteccia cerebrale e dell'ippocampo del cervello di ratto e si colocalizza con i markers dell'apparato di Golgi (Zhu et al, 2003). Atlastina sembra una proteina integrale di membrana, con due domini transmembrana predetti, una struttura che ricorda quella delle mitofusine, delle grosse GTPasi che attraversano la membrana mitocondriale due volte e possono essere coinvolte in eventi di fusione. La mutazione da noi riportata causa la sostituzione di un aminoacido idrofilico basico (arginina) con uno idrofobico (triptofano) nella parte terminale del secondo dominio putativo di atlastina. La mutazione R495W probabilmente perturba la struttura secondaria di atlastina, alterando forse la giusta conformazione e l'auto oligomerizzazione o la corretta associazione alla membrana, o entrambe (Zhu et al, 2003).



La presentazione clinica di questa nuova variante di atlastina non differisce significativamente dalle mutazioni precedentemente descritte. L'esordio della malattia era nell'infanzia e la paraparesi non era associata ad altre caratteristiche cliniche. Sebbene l'esame neurologico non rivelasse segni di neuropatia periferica, lo studio neurofisiologico mostrava una neuropatia assonale sensitivo motoria, una condizione osservata per la prima volta in HSP da mutazione di *SPG3A*. Infatti lo studio neurofisiologico effettuato solo in due lavori precedenti, aveva dato normali risultati (Dal Pozzo et al, 2003; Tessa et al, 2002).

È allo stato ignoto come una mutazione di atlastina e i conseguenti difetti della struttura della membrana dell'apparato di Golgi o il traffico delle vescicole, possano causare una assonopatia distale nei motoneuroni superiori con assoni più lunghi. Comunque, deficit del trasporto lungo gli assoni sono stati implicati in altre forme di HSP (Reid et al, 2002), nella sclerosi laterale amiotrofica (LaMonte et al, 2002) e nella malattia di Charcot-Marie-Tooth tipo 2A (Zhao, Takita et al, 2001). Tutte queste implicazioni evidenziano un importante ruolo di atlastina nello sviluppo del sistema nervoso centrale e periferico.

#### **1.4 Studio delle famiglie con HSP-AR ed ipoplasia del corpo calloso: descrizione di 20 nuove famiglie, restringimento del locus *SPG11*, analisi dei geni candidati ed evidenza di eterogeneità genetica**

##### *Premessa*

*SPG11* sembra essere la più comune forma di HSP-AR. Nell'ambito di uno studio collaborativo abbiamo selezionato, nella nostra casistica di HSP-AR, famiglie con fenotipo compatibile per lo studio di linkage al locus *SPG11*.

##### *Pazienti e metodi*

Sono state reclutati 40 pazienti e 59 parenti da 20 famiglie le cui caratteristiche cliniche rientravano nei criteri clinici e neuroradiologici per HSP-AR-TCC (Casali et al, 2004). Tredici famiglie erano italiane, due algerine, 2 portoghesi, 1 marocchina, 1 turca ed 1 tedesca. Le mutazioni di altri geni implicati in HSP con ipoplasia del corpo calloso (*SPG7*, *21*, *4*) ed il gene responsabile dell'agenesia del corpo calloso (*ACCPN*, *SCL12A6*) (Howard et al, 2002) sono state escluse per mezzo di DHPLC (Depienne et al, 2006; Patrono et al, 2005; Elleuch et al, 2006), sequenziamento diretto o analisi di linkage utilizzando i markers appropriati (Casaubon et al, 1996). Otto ulteriori markers per il locus *SPG11* (D15S1044, D15S784, D15S182, D15S517, D15S659, D15S161, D15S1039, S15S143) sono stati selezionati per l'analisi di linkage e amplificati per PCR (Casali et al, 2004; Lossos et al, 2006). Gli aplotipi sono stati costruiti manualmente; i LOD score sono stati ottenuti con la versione FASTLINK del programma MLINK; i LOD score multipoint sono stati costruiti con il programma Allegro 1.2c. Per determinare l'ordine dei markers e le distanze genetiche è stata usata la mappa genetica Marshfield del cromosoma 15.

L'analisi per due geni candidati dell'intervallo di *SPG11* è stata eseguita in 5 famiglie per sequenziamento diretto degli esoni codificanti e dei siti di splicing su sequenziatori ABI.

##### *Risultati*

Lo studio ha incluso 40 pazienti (21 maschi e 19 femmine) da 20 famiglie, la maggior parte delle quali del bacino del Mediterraneo e in cui i criteri diagnostici soddisfacevano quelli proposti per HSP-AR-TCC (Iwabuchi et al, 1994; Casali et al, 2004). La consanguineità era presente in 6 famiglie. L'esordio con disturbi della deambulazione era ad un'età media di  $16.2 \pm 3.2$  (range 1.5-21 anni). In complesso la neuropatia era presente nel 75% dei casi e il

ritardo mentale nell'86%. Il corpo calloso sottile era presente alla RM in circa il 90% dei casi, mentre le alterazioni della sostanza bianca periventricolare nel 72%. Mutazioni di *SPG4*, *SPG7*, *SPG21* sono state escluse per sequenziamento diretto o analisi di linkage. Inoltre per linkage è stato escluso il gene *SCL12A6*, responsabile di agenesia del corpo calloso (Howard et al, 2002).

Analisi di linkage. L'analisi di linkage è stata non conclusiva in dieci famiglie per non informatività dei pedigree. Nelle altre 10 famiglie l'analisi è stata informativa. In 6 famiglie (6/10, 60%) ha mostrato lod score da 0.6 a 3.8 per il marker D15S659. Considerando questi dati con quelli delle 5 famiglie italiane già riportate (Casali et al, 2004), è stato ottenuto un lod score multipoint cumulativo massimo di 5.97 nell'intervallo dei markers D15S971-D15S123. Mediante la ricostruzione degli aplotipi il limite telomerico è stato definito a D15S123 per un evento di ricombinazione tra D15S123 e D15S143. Un evento di ricombinazione è stato individuato anche tra i markers D15S971 e D15S1044, ed il limite centromerico è stato definito al marker D15S1044, sulla base degli aplotipi comuni, tra D15S1044 e D15S123 allo stato omozigote in tutti e tre i pazienti di questa famiglia. Il nuovo intervallo di 6 cM si sovrappone parzialmente al locus ALS5 (Hentati et al, 1998) ed esclude il locus *ACCPN* e la regione cromosomica inizialmente definita per *SPG11* (Martinez Murillo et al, 1999).

Fenotipo delle famiglie *SPG11* confrontato con quello delle famiglie non *SPG11* La tabella 8 mostra in dettaglio le caratteristiche cliniche dei pazienti *SPG11*. Le nuove famiglie *SPG11* originavano dall'Italia (n=2), Portogallo (n=2) e due erano di origine marocchina e algerina e vivevano in Francia. In 17 casi (8M e 9F) l'età media all'esordio era  $15.8 \pm 3.7$  anni (range 8-23). Tutti i pazienti manifestavano deterioramento mentale progressivo (da leggero a moderato) e paraparesi spastica lentamente progressiva. I segni clinici e neurofisiologici di coinvolgimento del nervo periferico erano riscontrati in 13 pazienti (76%). In tutte le famiglie il disturbo della deambulazione accompagnato da difficoltà motorie nelle prime due decadi era il più comune sintomo all'esordio. Non è stata osservata una significativa variabilità intra- o inter-familiare. Come risultato della progressione della malattia, sei pazienti (35%) erano costretti alla sedia a rotelle dai 30 anni; tuttavia la disabilità funzionale tendeva ad aumentare con l'età. Il punteggio di severità medio della malattia era 3. Mentre nessuno aveva deficit sensitivi, segni di disfunzione cerebellare, quali disartria e amiotrofia degli arti superiori o

inferiori lieve o moderata, sono state ritrovate in 8 pazienti (47%). Un paziente aveva incontinenza urinaria, laddove la cataratta era una caratteristica addizionale in un altro. L'esordio del deterioramento cognitivo era prominente nell'adolescenza precoce in 14 pazienti (83%) ed era generalmente seguito, in 2-9 mesi, dall'esordio dei disturbi motori. Al test WAIS quattro pazienti mostravano un QI medio di 70.5 (normale >90). Nella maggior parte dei casi il profilo cognitivo era caratterizzato da memoria conservata a lungo termine, ma deficitaria a breve termine, deficit dell'attenzione, labilità emotiva, comportamenti puerili, difficoltà di concentrazione con significative ripercussioni sulle attività scolastiche e lavorative. Inoltre, la maggior parte dei pazienti mostravano scarsa consapevolezza della progressione dei propri deficit motori. Tutto ciò correla bene con l'atrofia frontale individuata nelle immagini di risonanza. Solo due pazienti avevano deficit cognitivi molto gravi prima dei 40 anni. Alcune manifestazioni psichiatriche, quali ansia, disinibizione sessuale e fobie sono state registrate in tre pazienti.

Come atteso, la RM mostrava assottigliamento, e probabilmente atrofia progressiva della parte rostrale del corpo calloso in nove pazienti *SPG11* linked (53%). In due soggetti era stata riportata una RM normale 5 anni prima dell'esordio dei sintomi clinici, ma in uno di loro una più recente RM mostrava un significativo assottigliamento del corpo calloso con iperintensità della sostanza bianca periventricolare. I restanti casi non hanno praticato RM encefalo, ma ognuno presentava un disordine neurologico simile a quello del proprio fratello. Sono stati inoltre riscontrati atrofia della corteccia frontale in 6 casi (47%) e alterazioni della sostanza bianca periventricolare in 8 casi (47%) nel gruppo dei pazienti con malattia in fase avanzata. In un caso è stata osservata atrofia del tronco encefalo e del cervelletto. Non erano interessati i gangli della base ed il midollo spinale.

È interessante notare che il quadro clinico e l'età media all'esordio ( $16.1 \pm 2.2$  anni) nelle famiglie non *SPG11*-linked non erano distinguibili da quelli delle famiglie linked con il cromosoma 15.

Analisi del gene candidato *SPG11* Sono stati analizzati due geni (*MAP1A* e *SEMA6D*) dall'intervallo candidato definito dal sequenziamento diretto di tutti gli esoni codificanti e delle sequenze fiancheggianti gli introni di pazienti indice di 5 famiglie con evidenza di linkage a *SPG11* (FSP221 e IT-MP in questo lavoro, IT-OS, IT DKD e IT-PE in Casali et al, 2004). *MAP1A* codifica per una proteina specifica del sistema nervoso centrale che è coinvolta

dell'assemblaggio dei microtubuli, tappa essenziale nella neurogenesi e nello sviluppo iniziale del midollo spinale. *SEMA6D* codifica per una semaforina transmembrana di classe 6, un membro di una grossa famiglia di proteine che agiscono da inibitori o chemorepellenti nello sviluppo, la suddivisione e la direzione degli assoni.

### *Discussione*

Viene qui riportata la più grossa serie di pazienti con HSP-AR-TCC analizzata finora. La maggior parte delle famiglie proviene dal bacino del Mediterraneo. Con l'aumentare del numero delle famiglie diventa chiaro che tale patologia non è esclusiva della popolazione giapponese.

Sono inoltre possibili altre considerazioni. La prima è che HSP-AR-TCC è una forma abbastanza comune di HSP, soprattutto nei paesi dell'area mediterranea, in particolare l'Italia, dove sono state descritte 25 famiglie, di cui il 30% *SPG11* linked. Nel presente studio vengono riportate 6 nuove famiglie in linkage con il cromosoma 15, portando così il numero complessivo delle famiglie *SPG11* a 27 nel mondo. Le sei famiglie *SPG11* rappresentano il 60% delle famiglie con HSP-AR-TCC di quelle in cui è stato possibile lo studio di linkage. In secondo luogo, il disordine è chiaramente eterogeneo dal punto di vista genetico. Questo rinforza l'idea che esista almeno un altro locus distinto. In questo studio identifichiamo anche 4 ulteriori famiglie non linked. Tuttavia questa eterogeneità genetica non correla con la diversità del quadro clinico ed i criteri clinici adottati non consentono di rilevare differenze tra le famiglie in linkage e quelle non in linkage.

Terza considerazione, con il presente studio viene significativamente ristretto il locus *SPG11* ad un intervallo di 6cM. La nuova regione *SPG11*, che contiene almeno 70 geni, cade all'interno della regione identificata nelle famiglie giapponesi (Shibasaki et al, 2000). Infine, sono state escluse mutazioni degli esoni codificanti di due di questi geni, *MAP1A* e *SEMA6D*.

### **1.5 Studio neuropsicologico di una casistica di pazienti con HSP molecularmente identificata; valutazione delle caratteristiche neuropsicologiche di una famiglia con mutazione del gene di paraplegina (*SPG7*).**

#### *Premessa*

Scopo del presente studio è la valutazione neuropsicologica di una casistica di pazienti con HSP molecularmente identificata con i seguenti obiettivi: identificare il tipo di deficit mediante l'uso di una batteria neuropsicologica completa; confrontare i deficit eventualmente presenti tra le diverse forme molecolari. A differenza che negli studi precedentemente condotti, in cui sono stati per lo più utilizzati 'test di screening', in questo lavoro sono state utilizzate sia una batteria standard per la valutazione delle abilità intellettive generali (WAIS-R), sia prove neuropsicologiche specifiche per la valutazione delle abilità di memoria, del pensiero visuo-spaziale, del controllo e della programmazione cognitiva.

#### *Materiali e metodi*

##### Soggetti

Sono stati selezionati 16 pazienti HSP affetti da *SPG4*, 3A, 5, 7 (11 M, 5 F, età media  $43.87 \pm 15.55$ , scolarità media  $10.3 \pm 3.6$ ) afferenti agli ambulatori per le atassie e le paraparesi spastiche delle Università Federico II di Napoli e La Sapienza di Roma (tabella 9). Le caratteristiche cliniche dei pazienti *SPG7* sono mostrate più in dettaglio nella tabella 10. Come gruppo di controllo sono stati valutati 15 soggetti (5 M, 10 F, età media  $41.06 \pm 12.93$ , scolarità media  $10 \pm 4.3$ ) reclutati tra i familiari dei pazienti e tra i residenti della provincia di Napoli di età e scolarità paragonabile al gruppo sperimentale.

##### *Test Neuropsicologici*

Tutti i pazienti e i soggetti di controllo, dopo aver fornito il loro consenso informato per partecipare allo studio, sono stati sottoposti alle seguenti prove:

Test per la memoria a breve termine:

- Test di Corsi (span spaziale): consiste in una prova di memoria seriale a breve termine di posizioni spaziali. Il punteggio equivale al numero di posizioni spaziali che il soggetto è in grado di riprodurre almeno due volte nella sequenza indicata dall'esaminatore (Spinnler e Tognoni, 1987);

- Test di ripetizione seriale di parole bisillabiche (span verbale): tale test misura la capacità della memoria a breve termine verbale. Il punteggio è dato dalla serie di parole più lunga ripetuta correttamente (Spinnler e Tognoni, 1987).

Test per la memoria a lungo termine verbale:

- Test di memoria di prosa: valuta le abilità di rievocazione di un testo il cui punteggio valorizza il procedimento di estrazione dei significati principali. Viene eseguito in due condizioni: nella prima è richiesta la rievocazione immediata del testo; nella seconda, la rievocazione è preceduta da un intervallo di 10 minuti durante i quali il soggetto è impegnato in compiti non verbali. Il punteggio è dato dalla somma degli elementi rievocati nelle due condizioni e può variare da 0 a 16 (Spinnler e Tognoni, 1987).

- Test delle 15 parole di Rey: consiste in una prova di apprendimento e rievocazione di una lista di parole. Tale lista viene presentata per 5 volte e dopo ogni presentazione il soggetto deve richiamare tutte le parole che ricorda. Il punteggio di rievocazione immediata è dato dalla somma delle parole richiamate (punteggio massimo=75). Dopo 10 minuti, durante i quali vengono somministrati compiti visuospatiali, il soggetto deve richiamare di nuovo tutte le parole che ricorda (punteggio di rievocazione differita; punteggio max=15; Caltagirone et al, 1995).

Test per le abilità costruttive:

- Test di aprassia costruttiva: misura le abilità di disegno mediante la copia di 7 figure geometriche di complessità crescente; viene attribuito un punteggio da 0 a 2 in base all'accuratezza della riproduzione del soggetto (max=14) (Spinnler e Tognoni, 1987);

- Test della figura complessa di Rey: prevede un compito di copia immediata e uno di richiamo differito e permette di valutare sia le abilità costruttive che la memoria spaziale. Viene attribuito un punteggio che varia da 0 a 2 in base all'accuratezza ad ogni elemento riprodotto (max=36). È inoltre possibile valutare le strategie che il soggetto adotta nell'eseguire il compito di copia. Sono state classificate 7 tipologie (Rey, 1942; Osterreith, 1944; Caffarra et al, 2002):

Tipo I: iniziando dal rettangolo centrale, si disegnano poi tutti gli altri elementi della figura.

Tipo II: a partire da uno dei dettagli esterni si prosegue con il rettangolo centrale e poi con il resto della figura.

Tipo III: si traccia prima il contorno generale, senza differenziare il rettangolo centrale, e poi lo si riempie con gli elementi interni.

Tipo IV: si disegnano uno alla volta i singoli dettagli, procedendo per contiguità, senza un evidente piano di esecuzione.

Tipo V: si disegnano pochi dettagli corretti su uno sfondo confuso.

Tipo VI: si disegna una figura familiare che vagamente assomiglia al modello.

Tipo VII: si disegna uno scarabocchio.

Test di intelligenza generale :

- Matrici progressive di Raven 1947: valuta le abilità logiche e astrattive del soggetto con materiale visuo-spaziale. Il compito consiste nel completare una figura individuando la parte mancante tra 6 alternative (punteggio massimo=36) (Raven, 1982; Caltagirone et al, 1995);
- Test dei Giudizi verbali: permette di valutare le capacità critiche e di giudizio del soggetto. Consiste in 4 subtest: identificazione di differenze in coppie di parole, spiegazione di proverbi, identificazione di assurdità in frasi semplici e categorizzazione di elementi semplici (punteggio massimo=60) (Spinnler e Tognoni, 1987).
- WAIS-R: tale batteria di test indaga le abilità intellettive generali del soggetto in modo complessivo tramite l'utilizzo di 6 prove verbali e 6 di performance (Wechsler Adult Intelligence Scale, 1997).

Test per le abilità visuo-spaziali:

- TERADIC: è composta da due sezioni che valutano le abilità percettive e rappresentazionali
- A) Abilità percettive: la sezione comprende quattro compiti che valutano le abilità di analisi visuospatiale. Tali compiti consistono nel riconoscimento di uno stimolo tra quattro possibilità: lo stimolo viene presentato sul lato sinistro e le quattro possibilità sul lato destro. Gli item sono presentati uno alla volta e il soggetto deve individuare l'unico item identico allo stimolo, tra i distrattori, senza limiti di tempo. Ad ogni risposta corretta viene assegnato 1 punto.
- 1- Giudizio di lunghezza di linee. Questo compito include 20 item; il soggetto deve identificare, tra le quattro possibilità, la linea con la stessa lunghezza dello stimolo presentato sul lato sinistro. Gli item sono di complessità crescente, poiché le differenze di lunghezza tra gli stimoli e i distrattori gradualmente decrescono (punteggio massimo =20).



2- Giudizio di orientamento di linee. Include 10 item, nella prima metà dei quali la differenza di orientamento tra stimolo e distrattori è di 30°, mentre nell'altra metà è di 15°. Nei primi 7 items, i distrattori (della stessa lunghezza degli stimoli) sono presentati in una disposizione ordinata spazialmente, mentre negli ultimi 3 items i distrattori sono disposti con orientamento casuale (punteggio massimo=10).

3- Giudizio di ampiezza di angoli. Questo compito include 10 item; il soggetto deve identificare lo stimolo (un angolo) tra i distrattori che differiscono dallo stesso di ampiezza che varia dai 15° ai 90° (punteggio massimo = 10).

4- Identificazione di posizione di punti. Gli stimoli ( $n = 12$ ) consistono in quadrati contenenti da 1 a 3 punti; i distrattori hanno lo stesso numero di punti ma in una differente configurazione spaziale (punteggio massimo = 12).

B) Abilità rappresentazionali: questa sezione comprende quattro compiti che richiedono al soggetto di rappresentarsi mentalmente relazioni spaziali. I primi tre compiti hanno la configurazione di riconoscimento tra quattro possibilità come i precedenti; ogni risposta corretta vale 1 punto. L'ultimo si presenta in maniera diversa.

5- Rotazioni mentali. I 10 stimoli hanno la forma della lettera maiuscola L ( $n = 5$ ) o della S ( $n = 5$ ), con un piccolo cerchio bianco e nero alle estremità. Il soggetto deve individuare l'unico item che è uguale allo stimolo dopo una rotazione mentale. Prima della prova il soggetto riceve due esempi pratici con stimoli solidi (punteggio massimo = 10).

6- Identificazione di figure complesse (riconoscimento forme). I 10 stimoli consistono in forme geometriche senza senso di complessità crescente, non facilmente descrivibili verbalmente. Anche in questo caso, due prove pratiche sono fornite prima del compito (punteggio massimo = 10).

7- Identificazione di figure nascoste. I 10 stimoli consistono in configurazioni geometriche senza senso di complessità crescente. Per ogni stimolo, il riquadro di quattro scelte include configurazioni geometriche più complesse, all'interno di una delle quali lo stimolo è perfettamente contenuto. Prima del test vengono eseguite due esempi di prova (punteggio massimo = 10).

8- Costruzione mentale. I 10 stimoli per il compito di costruzione mentale consistono in quadrati suddivisi a caso in quattro parti. Le quattro parti di ogni stimolo sono disposte a caso nel riquadro sulla destra; il soggetto deve prima individuare all'interno dello stimolo due

componenti richieste dall'esaminatore e poi identificare con quale lato si toccano. Sono poste due domande per ogni prova; ogni risposta corretta vale 1 punto (punteggio massimo = 20). Prima del test si fanno due prove pratiche con stimoli solidi. Questo test richiede al soggetto di ricostruire mentalmente lo stimolo per dare la corretta risposta (Terapia razionale dei disturbi costruttivi; Angelini e Grossi, 1993).

Test per le funzioni esecutive:

- Trail Making Test: valuta la sensibilità del soggetto agli effetti di interferenza. Consiste in due prove: nella prima si richiede al soggetto di unire in sequenza dei cerchietti numerati da 1 a 24; nella seconda, quella soggetta a interferenza, i cerchietti contengono numeri o lettere e il soggetto deve unirli alternando le sequenze dei numeri e delle lettere in maniera ordinata (Giovagnoli et al, 1996);
- Stroop Test: valuta la capacità di inibire risposte automatiche ben apprese a favore di risposte nuove esplicitamente richieste durante il compito. Consiste nella denominazione del colore dell'inchiostro con cui sono scritti nomi di colori (Venneri et al, 1993);
- Test di fluenza verbale semantica: il soggetto deve produrre parole appartenenti ad una categoria indicata dall'esaminatore (frutta, animali, città, colori) in un tempo stabilito (2 min. per categoria). Il punteggio equivale alla media delle parole prodotte nelle quattro prove (Spinnler e Tognoni, 1987);
- Wisconsin Card Sorting Test (WCST): valuta le abilità del soggetto di individuare e modificare in tempi successivi i criteri in base ai quali classificare carte contenenti colore, forma e numero diversi.

Il soggetto deve classificare 128 carte; la difficoltà del compito consiste nel fatto che il soggetto deve dedurre il criterio giusto da adoperare senza indicazioni esplicite dell'esaminatore.

Il test rileva l'integrità delle funzioni esecutive attraverso diversi indici:

- Punteggio Globale: permette una valutazione generale della prestazione e corrisponde al numero di carte utilizzate dal soggetto per completare la prova. Quanto più è basso il numero di carte adoperate, e quindi il punteggio globale, tanto migliore è la performance (punteggio minimo=0; massimo=128).

- **Punteggi Perseverativi:** quantifica il comportamento perseverativo. Rileva cioè, la rigidità del soggetto a modificare strategie precedentemente utilizzate e ad elaborarne nuove a seconda delle richieste del compito.

- **Punteggio Non-Perseverativo:** quantifica gli errori non dovuti a tendenze perseverative.

Evidenziano la mancanza di strategie nella ricerca del criterio.

- **Fallimento a mantenere la serie:** avviene quando un errore segue una serie di risposte corrette di almeno 4 carte. Indica la difficoltà nel mantenere la stessa strategia per tutta la serie ed è causato da distrazioni del soggetto durante l'esecuzione del compito (Laiacina et al, 2000).

### *Risultati*

#### Confronto tra pazienti e gruppo di controllo

##### Batteria generale e WAISS-R

I pazienti hanno ottenuto un punteggio QI Verbale medio di  $90.4 \pm 16.47$ , un QI di performance di  $93.1 \pm 15.8$  ed un QI totale di  $90.6 \pm 16.7$ .

I punteggi medi dei pazienti e del gruppo di controllo sono riportati nella tabella 11. Il confronto statistico tra i due gruppi effettuato sulle singole variabili non ha evidenziato differenze significative.

##### Test per le funzioni esecutive

In tabella 12 sono riportati i punteggi medi dei pazienti e del gruppo di controllo alle prove per le funzioni esecutive. Il confronto statistico (ANOVA) tra i due gruppi ha evidenziato una differenza significativa nel punteggio globale al WCST ( $F=5,345$ ;  $p=.028$ ), mentre il punteggio relativo ai fallimenti nel mantenere la serie al WCST risulta ai limiti della significatività ( $F=3,902$ ;  $p=.058$ ).

Più in particolare, entrambi i pazienti *SPG7* (tabella 10) mostrano performance basse nei test esecutivi. Il Paziente DV presenta punteggi deficitari al test di Stroop e punteggi ai limiti inferiori al WCST e alla prova di fluenza verbale; il paziente DM presenta punteggi deficitari al WCST e punteggi ai limiti inferiori al test di Stroop.

##### Test per le abilità visuospatiali

In tabella 13 sono riportati i punteggi medi dei pazienti e del gruppo di controllo alle 8 prove della Teradic. Il confronto statistico tra i due gruppi non ha evidenziato nessuna differenza significativa.

##### Confronto tra gruppi (*SPG4* vs. le altre forme di HSP)

Allo scopo di valutare le differenze tra la forma *SPG4* e le altre forme di HSP, sono stati confrontati i punteggi medi dei due gruppi a tutti i test effettuati (tabella 14). Il confronto statistico tra i due gruppi non ha evidenziato differenze significative. Va sottolineato tuttavia che la numerosità dei due gruppi è diversa e ciò può aver inciso sull'analisi.

#### Correlazione tra funzioni cognitive e variabili legate alla malattia

È stata ricercata un'eventuale correlazione ( $r$  di Pearson) tra i punteggi ai test neuropsicologici e le variabili legate alla malattia: età d'esordio, durata di malattia e gravità del deficit motorio. E' emersa una correlazione significativa tra le abilità costruttive complesse (Figura di Rey) e gli anni di malattia (tabella 15).

#### Risultato valutazioni supplementari

La SPET cerebrale con Tc99 ha mostrato ipoperfusione dei lobi frontali in entrambi i pazienti *SPG7*.

#### *Conclusioni*

Fin dalle prime descrizioni delle HSP sono stati riportati casi in cui le funzioni cognitive risultavano variamente compromesse. Nonostante la distinzione clinica tra forme pure e complicate, emerge dalla letteratura che anche nelle forme definite pure possa esserci un coinvolgimento delle funzioni cognitive, sotto forma di perdita delle capacità già acquisite. A partire da queste osservazioni è stato condotto questo studio. Sono stati analizzati pazienti affetti da diverse forme di HSP utilizzando un'ampia batteria di test neuropsicologici. Tali pazienti sono stati confrontati con un gruppo di soggetti provenienti dallo stesso ambiente socio-culturale per annullare il peso che le variabili ambientali esercitano sulla condizione patologica.

Il primo dato evidente è che il gruppo da noi studiato non differisce in maniera significativa dal gruppo di controllo ad eccezione di una minore efficienza delle funzioni esecutive. L'unico test infatti in cui le prestazioni dei pazienti risultano peggiori dei controlli è il Wisconsin Card Sorting Test, in particolare nel punteggio globale. Ciò evidenzia una scarsa capacità nella scelta delle strategie adeguate nella risoluzione di problemi e nel ragionamento astratto in generale. Risulta poi una correlazione tra gli anni di malattia e le funzioni costruttive complesse. Sembrerebbe quindi che tali pazienti, sulla base di una debole efficacia delle funzioni frontali, possano sviluppare nel corso del processo patologico una difficoltà nel pianificare ed eseguire un compito complesso. Tali caratteristiche risultano comuni a tutte le

forme di SPG da noi osservate. Non emergono infatti differenze significative tra la forma *SPG4*, la più comune, e le altre. Ciò indica che non è stato possibile delineare un profilo specifico della forma *SPG4*, sebbene negli studi precedenti siano state rilevate forme di demenza di natura differente legate a questa mutazione.

Noi non abbiamo rilevato casi di demenza sebbene vada sottolineato che l'età media del nostro gruppo era di 43 anni, età in cui difficilmente è possibile riscontrare segni di demenza. Ci riproponiamo infatti di eseguire uno studio longitudinale al fine di osservare l'evoluzione delle funzioni cognitive di tali pazienti. Seguire infatti la storia naturale della patologia permette di delineare un quadro chiaro del coinvolgimento delle funzioni cognitive.

Per quanto riguarda invece i due fratelli con HSP da mutazione di *SPG7*, i deficit esecutivi rilevati in entrambi non erano stati finora riportati in associazione con questa forma. Le mutazioni di questo gene sono associate con una forma di HSP autosomica recessiva, che si presenta sia con fenotipo puro che complicato. *SPG7* è una forma rara di HSP ed è stata descritta in 8 famiglie. Quando si presenta in forma complicata può essere associata a segni cerebellari o ad atrofia cerebellare.

Il Paziente DV presenta punteggi deficitari al test di Stroop e punteggi ai limiti inferiori al WCST e alla prova di fluenza verbale; il paziente DM presenta punteggi deficitari al WCST e punteggi ai limiti inferiori al test di Stroop; i rimanenti test neuropsicologici, compresi WAIS erano nel range normale, o ai limiti inferiori. La SPET cerebrale con Tc99 mostrava ipoperfusione cerebrale in entrambi.

Questi risultati sono a favore di una disfunzione esecutiva nei nostri pazienti *SPG7*. Anche ad una valutazione neuropsicologica non formale una certa difficoltà nella modulazione del comportamento e nello stile di personalità era già evidente in entrambi: infatti i due fratelli presentavano comportamenti ripetitivi e tratti ossessivi. Inoltre i due pazienti presentano alcune caratteristiche 'complicate': ipoacusia ed ipogonadismo in entrambi, malformazione cardiaca nel paziente DV e distonia focale (crampo dello scrivano) nel paziente DM; nel paziente DM era anche presente atrofia cerebellare alla RM dell'encefalo. Anche se la mutazione descritta nei due pazienti, una delezione di 2bp (784del2) che causa un frameshift con l'abolizione di circa il 60% della proteina, non è stata riportata in altre famiglie (Casari et al, 1998; De Michele et al, 1999; Elleuch et al, 2006), è possibile che sia associata con un fenotipo complicato della malattia, che include deficit neuropsicologici. Le rimanenti 10

mutazioni descritte in 8 famiglie (presenti sia allo stato omozigote, che in doppia eterozigosi) riportate finora possono essere presenti in associazione con un fenotipo complicato di HSP, ma non con problemi cognitivi.

La presenza di disfunzione esecutiva/frontale anche in pazienti con altre forme di HSP nel presente studio e nella letteratura relativa alla forme *SPG4* suggerisce che in aggiunta al danno dei tratti corticospinali le mutazioni delle HSP potrebbero causare lesioni in strutture corticali o sottocorticali che porterebbero ad una sindrome disesecutiva.

## **2. Sindrome di tremore ed atassia associati all'X-fragile: screening di una serie di pazienti con atassia idiopatica ad esordio tardivo per premutazione del gene *FMRI***

### *Introduzione*

L'espansione di triplette trinucleotidiche CGG (>200) nella regione 5' non tradotta del gene *FMRI* è la causa più frequente di ritardo mentale ereditario (Hagerman et al, 2002). Come risultato dell'espansione le ripetizioni CGG e la circostante regione del promotore del gene *FMRI* sono metilate, con inibizione della trascrizione di *FMRI* e conseguente assenza della proteina, FMRP. Sebbene il numero di CGG nella popolazione sia altamente variabile (6-54), la maggioranza degli alleli ha 29-30 ripetizioni che sono stabili nella trasmissione intergenerazionale e sono usualmente interrotte da 2 triplette AGG, sebbene siano stati osservati casi di 3 o 4 interruzioni. Le femmine carrier e i maschi trasmettitori hanno espansioni tra 50 e 200 ripetizioni (alleli premutati). Le ripetizioni normali e premutate sono non metilate nei maschi e soggette a lyonizzazione nelle femmine. Le premutazioni sono instabili nelle meiosi femminili; il rischio di espansione ad un allele pienamente espanso è funzione, in parte, della lunghezza della premutazione. Tuttavia, una certa instabilità si verifica anche per le ripetizioni più piccole in una misura che dipende sia dalle dimensioni dell'espansione in sé che dal numero di interruzioni AGG all'interno del tratto CGG (Zhong et al, 1995; Crawford et al, 2000; Nolin et al, 2003). Le triplette AGG apparentemente hanno un ruolo stabilizzante prevenendo eventi di 'scivolamento' nella replicazione; infatti la perdita o la mancanza del tratto più distale delle interruzioni AGG è un importante fattore dell'instabilità dell'espansione CGG.

La possibilità di un coinvolgimento clinico dei carrier della premutazione era stata esclusa dal momento che le madri di bambini con sindrome X-fragile erano intellettivamente normali (Reiss et al, 1993; Bennetto et al, 2001). Tuttavia nell'ultima decade un certo numero di studi hanno documentato il fatto che un sottogruppo di femmine carrier può avere lievi caratteristiche fisiche della sindrome X-fragile, come le orecchie prominenti o la lassità articolare (Riddle et al, 1998; Hagerman et al, 2002b). In aggiunta, alcune carriers hanno problemi emotivi, come ansia, pensieri ossessivi, schizotimia, e/o depressione; tali problemi si verificano più facilmente nelle donne carrier con >100 CGG (Loesch et al, 1994; Francke et al, 1998; Sobesky 1996; Hagerman et al, 2002b).

Un disturbo esclusivo della premutazione di *FMRI* è l'insufficienza ovarica precoce (Premature Ovarian Failure), una forma di menopausa al di sotto dei 40 anni, che si riscontra in circa il 20% delle femmine portatrici della premutazione (Allingham-Hawkins et al, 1999; Marozzi et al, 2000).

Un secondo tipo di coinvolgimento clinico, recentemente identificato nei maschi anziani portatori della premutazione (Hagerman et al, 2001), consiste in tremore intenzionale progressivo, atassia, parkinsonismo e disfunzione autonoma ed è stato denominato 'sindrome di tremore e atassia associati all'X-fragile' (fragile-X associated tremor/ataxia syndrome, FXTAS) (Berry-Kravis et al, 2003; Jacquemont et al, 2004; Leehey et al, 2003; Hagerman e Hagerman, 2004). Possibili caratteristiche associate sono neuropatia periferica con riduzione distale della sensibilità profonda, e deficit cognitivi con coinvolgimento della memoria e delle capacità esecutive. La più tipica caratteristica neuroradiologica consiste in iperintensità simmetrica nelle sequenze T2 dei peduncoli cerebellari medi alla RM encefalo (Brunberg et al, 2002). Nei reperti autoptici di maschi anziani con FXTAS sono state identificate inclusioni intranucleari eosinofile nei neuroni e negli astrociti diffuse nel cervello (Greco et al 2002). Anche in un piccolo numero di donne si può sviluppare la sindrome con le caratteristiche inclusioni alle indagini autoptiche in un caso (Hagerman et al, 2004b).

Per quanto riguarda la patogenesi della sindrome, nel modello murino della patologia è stato riscontrato un aumento dei livelli di m-RNA (Bonteokoe et al, 2001). Anche nei pazienti FXTAS è stato proposto un ruolo dell'm-RNA nella formazione delle inclusioni; potrebbe trattarsi di una 'toxic gain of function' da parte dell'm-RNA (Hagerman et al, 2002; Greco et al, 2002). Tale meccanismo è stato proposto per varie atassie da triplette espanse, come SCA8, SCA10 e SCA12 e per due forme geneticamente determinate di distrofia miotonica (Ranum and Day, 2002). I tratti espansi CGG nell'm-RNA potrebbero attrarre grosse quantità di proteine leganti CGG, con un conseguente effetto cumulativo citotossico che indurrebbe alla formazione di inclusioni intranucleari e alla fine alla morte cellulare (Muller-Hartmann et al, 2000; Rosser et al, 2002). La presenza di componenti del pathway ubiquitina-proteasoma e di chaperoni molecolari è comune ad altre atassie ereditarie ed altri disordini da triplette, quali malattia di Huntington (Davis et al, 1997; Petersen et al, 2001), SCA1 (Koyano et al, 2002), SCA3 (Schmidt et al, 2002), SCA7 (Takahashi et al, 2002) e OPMD (Calado et al, 2000).



Pertanto è stato proposto un modello molecolare per la neuropatologia in FXTAS (Oostra and Willemsen 2003). 1. la lunga ripetizione CGG nel trascritto FMR1 impedisce la migrazione della subunità ribosomiale 40, con conseguente alterata traduzione; la cellula nervosa produce pertanto bassi livelli di FMRP. 2. in risposta ai bassi livelli di FMRP per un meccanismo di feedback non identificato si ha un aumento della trascrizione del gene *FMR1*, con conseguente aumento dei livelli di m-RNA di *FMR1*. 4. la cellula nervosa tenta di eliminare le eccessive quantità di trascritti FMR1 utilizzando chaperoni molecolari e componenti del pathway ubiquitina-proteasoma. Se livelli elevati di trascritto *FMR1* resistono si formeranno inclusioni intranucleari, con conseguente neurodegenerazione. Recentemente è stato dimostrato un ruolo delle sequenze di interruzione AGG nella stabilizzazione del tratto CGG (Napierala et al 2005). Questo ruolo potrebbe essere particolarmente importante nel determinare il fenotipo dei carrier delle premutazioni più corte e degli alleli normali lunghi. Infatti potrebbe essere che trascritti *FMR1* normali nel range alto che portano solo CGG producano un fenotipo tipo premutazione di *FMR1*, dal momento che strutture a forcina molto stabili potrebbero influenzare i livelli di RNA. Viceversa individui con la premutazione, ma con interruzioni stabilizzanti AGG potrebbero essere asintomatici. È notevole che espansioni *FMR1* nella zona intermedia e normale-alta siano state riportate in associazione con POF; inoltre è stato dimostrato che gli alleli intermedi ritrovati nelle pazienti POF erano composti solo da CGG senza interruzioni AGG (Bretherick et al, 2005; Bodega et al, 2005).

Le caratteristiche cliniche di FXTAS si sovrappongono in parte a quelle delle atassie cerebellari idiopatiche ad esordio tardivo (ILOCA), termine utilizzato per la prima volta da Harding ad indicare tutti i casi di atassia cerebellare ad esordio tardivo di origine ignota. La diagnosi di ILOCA dipende dall'esclusione di degenerazioni cerebellari genetiche e acquisite. L'esordio è generalmente nella quinta- sesta decade nella maggior parte dei pazienti, ma può variare dalla terza alla nona. L'atassia della marcia è il sintomo d'esordio più frequente. Il disturbo della coordinazione degli arti è quasi costante e la disartria è molto frequente. I riflessi profondi possono essere normali, vivaci o ridotti e il riflesso achilleo è assente in un terzo dei pazienti. Il segno di Babinski è presente in un terzo dei pazienti. La sensibilità profonda è frequentemente alterata. Alcuni pazienti hanno tremore intenzionale o posturale, nistagmo, disfagia, alterazioni cognitive, disturbi sfinterici. La malattia è progressiva e l'abilità a camminare in maniera autonoma è persa dopo circa 11.1 anni dall'esordio. Può essere

difficile la diagnosi differenziale tra ILOCA e atrofia multisistemica (MSA), in particolare nella forma cerebellare (C ), soprattutto nelle fasi iniziali della malattia. Quest'ultima è caratterizzata da una combinazione di segni cerebellari, piramidali, extrapiramidali e disautonomici. La diagnosi di MSA viene attualmente posta secondo i criteri di Gilman (tabella 16). MSA viene ritenuta possibile quando i pazienti hanno, accanto al criterio della disfunzione cerebellare, due ulteriori caratteristiche da due domini separati, come ipotensione ortostatica, rigidità o risposta plantare estensoria. Per la diagnosi di probabile MSA-C i pazienti devono avere il criterio della disfunzione autonoma in aggiunta all'atassia cerebellare. La disfunzione autonoma è definita da un calo della pressione ortostatica di almeno 30 mmHg o dall'incontinenza urinaria. La progressione di MSA è più rapida, con un tempo medio per la perdita della deambulazione autonoma di 4.7 anni. Approssimativamente un quarto dei pazienti con ILOCA evolve verso MSA in 5 anni. Il tempo di sopravvivenza stimato dalla transizione è 3.5 anni. La RM dei pazienti ILOCA mostra quasi costante atrofia cerebellare emisferica e vermicale, associata con atrofia del tronco encefalico e cerebrale in circa la metà dei pazienti. La RM può essere utile per diagnosticare MSA, in cui tipicamente è presente atrofia cerebellare e del tronco encefalico ed anomalie di segnale nei gangli della base e nel tronco encefalo (ipersegnale in T2 delle fibre pontine trasversali e del rafe mediano), ma tali alterazioni possono verificarsi tardivamente nel corso della malattia.

Sulla base della parziale sovrapposizione delle caratteristiche cliniche di FXTAS con altre patologie neurodegenerative sono stati condotti alcuni studi basati sulla ricerca delle premutazioni del gene *FMRI* in popolazioni di pazienti con patologie neurodegenerative. In gruppi di pazienti maschi con atassia spinocerebellare sono state ritrovate le seguenti proporzioni di portatori di premutazione: tre di 59 pazienti (5%) (Macpherson et al, 2003), cinque di 122 pazienti (4.1%) (Van Esch et al, 2005), e sei di 275 pazienti (2.2%) (Brussino et al, 2005), laddove un quarto studio non ha identificato nessun portatore di premutazione in un gruppo di 269 maschi e 241 femmine. In contrasto non sono state identificate premutazioni in altri studi: uno screening di 81 pazienti con tremore essenziale (Garcia Arocena et al, 2004); un gruppo di 167 pazienti con tremore essenziale, atassia sporadica, MSA e parkinsonismo atipico; 414 pazienti con parkinsonismo. Per quanto riguarda l'MSA due studi non hanno identificato premutazioni di *FMRI* tra 77 (36M, 41F) (Yabe et al, 2004) e 65 (40M, 25F) pazienti (Garland et al, 2004); in un gruppo di 426 pazienti con MSA diagnosticata

cl clinicamente, nel sottogruppo MSA-C (76) sono stati individuati 3 portatori di premutazione (3.95%); nel sottogruppo di pazienti con diagnosi confermata patologicamente non sono state individuate premutazioni (Kamm et al, 2005).

Scopo dello studio è la ricerca di premutazione in un gruppo di pazienti con atassia sporadica ad esordio adulto, confrontati con un gruppo di soggetti sani appaiati per età e sesso.

#### *Pazienti e metodi*

Una serie di 82 pazienti (44M+38F) con atassia sporadica ad esordio adulto è stata sottoposta a screening per la premutazione nel gene *FMRI*. L'età all'esordio dei pazienti variava da 25 a 77 anni (media  $\pm$  DS, 50.6 $\pm$ 11.9); l'età al momento dell'ultima visita era compresa tra 36 e 79 (media  $\pm$  DS, 60.3 $\pm$ 13.2). I criteri di inclusione per lo studio sono stati: esordio>25 anni, storia familiare negativa, possibile associazione di segni piramidali ed extrapiramidali, neuropatia periferica, deficit cognitivi, esclusione di cause note di atassia cerebellare. Nei pazienti sottoposti al test non sono state ritrovate espansioni patologiche in *FRDA* e *SCA1*, 2, 6. I risultati della RM encefalo erano disponibili per tutti i pazienti. Il data-set era incompleto per 29 pazienti. Secondo i criteri stabiliti da Gilman et al nel 1998 per la diagnosi di atrofia multisistemica (MSA), 16 pazienti avevano una diagnosi di MSA: possibile (PS) in 5 (2M+3F) e probabile (PR) in 11 (3M+8F). In 37 pazienti (23M+14F) la diagnosi era di atassia cerebellare idiopatica ad esordio tardivo (ILOCA).

L'attribuzione dei segni piramidali, extrapiramidali e del coinvolgimento autonomico è stata effettuata secondo i già citati criteri di Gilman.

Le caratteristiche cliniche e radiologiche sono riassunte nella tabella 17.

Le immagini di RM sono state ottenute con strumenti diversi (0.5, 1.5 T). Un neuroradiologo esperto ha valutato le immagini per la presenza di atrofia cerebellare (A), atrofia del tronco encefalo (B), 'segno della croce' (H), iperintensità putaminale (Pu), o loro combinazione. Gli studi SPECT sono stati eseguiti usando una 'dual-headed camera' (E.CAM; Siemens Medical System, Hoffmann Estates, IL), dopo iniezione di [<sup>123</sup>I]FP-CIT. La SPECT è stata eseguita in 15 pazienti, 9 MSA e 6 ILOCA.

Un gruppo di controllo di 70 individui di età paragonabile ai pazienti è stato sottoposto alla ricerca di premutazione in *FMRI*.

### *Risultati*

In nessun paziente, né in alcun controllo è stata riscontrata la premutazione di *FMRI*. Non sono state inoltre riscontrati, in entrambi i gruppi, alleli nel range della 'zona grigia', né differenze significative tra i due gruppi nel numero di alleli 'normali alti', né, nell'ambito dei pazienti, differenze nel numero di alleli 'normali alti' tra ILOCA e MSA.

Per quanto riguarda i risultati della RM encefalo, nel gruppo ILOCA, 'B' (atrofia del tronco encefalo) era presente in 4 pazienti come 'AB' (atrofia cerebellare + atrofia del tronco encefalo) e in 5 come 'ABH' (atrofia cerebellare + atrofia del tronco encefalo + 'segno della croce'); nel gruppo MSA-PR 'B' (atrofia del tronco encefalo) era presente in 2 pazienti come 'ABH' (atrofia cerebellare + atrofia del tronco encefalo + 'segno della croce'), in 1 come 'ABPu' (atrofia cerebellare + atrofia del tronco encefalo + iperintensità putaminale) e in un altro come 'AB' (atrofia cerebellare + atrofia del tronco encefalo); nel gruppo MSA-PS 'B' (atrofia del tronco encefalo) era presente in associazione con 'AH' (atrofia cerebellare + 'segno della croce') in entrambi i pazienti.

### *Discussione*

Fin dall'identificazione della sindrome FXTAS vari studi sono stati condotti per la ricerca di premutazione in popolazioni di pazienti atassici, con prevalenze riportate dallo 0.6 al 5.1%. La sindrome FXTAS è stata pertanto ritenuta una causa genetica frequente di atassia cerebellare sporadica ad esordio tardivo. Al contrario, in pazienti con diagnosi di MSA in cui vengano applicati in maniera stringente i criteri diagnostici di Gilman o in cui la diagnosi sia stata retrospettivamente confermata da studi autoptici, non pare frequente la presenza della premutazione.

In questo studio viene riportata l'assenza della premutazione in una casistica di pazienti con atassia cerebellare sporadica ad esordio adulto, in una parte dei quali è stata posta diagnosi di MSA possibile e probabile mediante l'adozione dei già citati criteri di Gilman.

È notevole che nonostante le prevalenze riportate in altri studi, nessuno dei pazienti sia risultato positivo allo screening, nemmeno nel gruppo degli ILOCA. In base a precedenti studi sono stati stilati dei 'gruppi fenotipici' raccomandati per il test genetico di *FMRI* (1. Atassia cerebellare in uomini con età uguale o superiore ai 50 anni; 2. tremore d'azione, parkinsonismo, demenza in uomini di età superiore ai 50 anni con uno dei seguenti: a) una

storia familiare di ritardo dello sviluppo, autismo, ritardo mentale o disfunzione ovarica precoce; b) iperintensità del peduncolo cerebellare medio alla RM encefalo; Hall et al, Neurology, 2005).

Il gruppo di pazienti in oggetto rispecchia le caratteristiche cliniche richieste, tuttavia in nessuno dei pazienti è presente una storia familiare riconducibile alla sindrome dell'X-fragile, né la caratteristica di RM dell'iperintensità dei peduncoli cerebellari medi.

Pertanto è possibile concludere che la premutazione di *FMR1* non è una causa comune di atassia sporadica ad esordio adulto nella nostra popolazione e che non è indicato praticare di routine la ricerca della premutazione stessa.

## Bibliografia parte 1

1. Angelini R., Grossi D. La terapia razionale dei disordini costruttivi. Centro di riabilitazione S. Lucia, Roma 1993
2. Blumen SC, Bevan S, Abu-Mouch S, Negus D, Kahana M, Inzelberg R, Mazarib A, Mahamid A, Carasso RL, Slor H, Withers D, Nisipeanu P, Navon R, Reid E. A locus for complicated hereditary spastic paraplegia maps to chromosome 1q24-q32. *Ann Neurol*. 2003;54:796-803
3. Bouslam N, Benomar A, Azzedine H, Bouhouche A, Namekawa M, Klebe S, Charon C, Durr A, Ruberg M, Brice A, Yahyaoui M, Stevanin G. Mapping of a new form of pure autosomal recessive spastic paraplegia (SPG28). *Ann Neurol*. 2005;57:567-71
4. Brockmann K, Simpson MA, Faber A, Bonnemann C, Crosby AH, Gartner J. Complicated hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum (HSP-TCC) and childhood onset. *Neuropediatrics* 2005;36:274-8
5. Burger J, Fonknechten N, Hoeltzenbein M, Neumann L, Bratanoff E, Hazan J, Reis A. Hereditary spastic paraplegia caused by mutations in the SPG4 gene. *Eur J Hum Genet* 2000;8:771-6
6. Byrne PC, Mc Monagle P, Webb S, Fitzgerald B, Parfrey NA, Hutchinson M. Age-related cognitive decline in hereditary spastic paraparesis linked to chromosome 2p. *Neurology* 2000;54:1510-17
7. Caffarra P, Vezzadini G, Dieci F, Zonato F, Venneri A. Rey-Osterrieth complex figure: normative values in an Italian population sample. *Neurol Sci* 2002;22:443-7
8. Caltagirone C, Gainotti G, Carlesimo GA, Parnetti L. Batteria per la valutazione del deterioramento mentale (parte I): descrizione di uno strumento per la diagnosi neuropsicologica. *Archivio di psicologia e psichiatria* 1995;55:461-70
9. Casali C, Valente EM, Bertini E, Montagna G, Criscuolo C, De Michele G, Villanova M, Damiano M, Pierallini A, Brancati F, Scarano V, Tessa A, Cricchi F, Grieco GS, Muglia M, Carella M, Martini B, Rossi A, Amabile GA, Nappi G, Filla A, Dallapiccola B, Santorelli FM. Clinical and genetic studies in hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum. *Neurology* 2004;62:262-8
10. Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, Zeviani M, Mora M, Fernandez P, De Michele G, Filla A, Coccozza S, Marconi R, Durr A, Fontaine B, Ballabio A. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. *Cell* 1998;93:973-83.
11. Casaubon LK, Melanson M, Lopes-Cendes I, Marineau C, Andermann E, Andermann F, Weissenbach J, Prevost C, Bouchard JP, Mathieu J, Rouleau GA. The gene

responsible for a severe form of peripheral neuropathy and agenesis of the corpus callosum maps to chromosome 15q. *Am J Hum Genet* 1996;58:28-34

12. Ciccarelli FD, Proukakis C, Patel H, Cross H, Azam S, Patton MA, Bork P, Crosby AH. The identification of a conserved domain in both spartin and spastin, mutated in hereditary spastic paraplegia. *Genomics* 2003 ;81:437-41
13. Confalonieri F, Duguet M. A 200-amino acid ATPase module in search of a basic function. *Bioessays* 1995 Jul;17:639-50
14. Coutinho P, Barros J, Zemmouri R, Guimaraes J, Alves C, Choro R, Lourenco E, Ribeiro P, Loureiro JL, Santos JV, Hamri A, Paternotte C, Hazan J, Silva MC, Prud'homme JF, Grid D. Clinical heterogeneity of autosomal recessive spastic paraplegias: analysis of 106 patients in 46 families. *Arch Neurol* 1999;56:943-9
15. Dalpozzo F, Rossetto MG, Boaretto F, Sartori E, Mostacciolo ML, Daga A, Bassi MT, Martinuzzi A. Infancy onset hereditary spastic paraplegia associated with a novel atlastin mutation. *Neurology* 2003 26;61:580-1
16. De Michele G, De Fusco M, Cavalcanti F, Filla A, Marconi R, Volpe G, Monticelli A, Ballabio A, Casari G, Coccozza S. A new locus for autosomal recessive hereditary spastic paraplegia maps to chromosome 16q24.3. *Am J Hum Genet.* 1998;63:135-9
17. Depienne C, Tallaksen C, Lephay JY, Bricka B, Poëa-Guyon S, Fontaine B, Labauge P, Brice A, Durr A. Spastin mutations are frequent in sporadic spastic paraparesis and their spectrum is different from that observed in familial cases. *J Med Genet* 2006;43:259-65
18. Dimitrijevic M.R., Lenman J.A., Prevec T., Wheatly K. A study of posterior column function in familial spastic paraplegia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;45:46-9
19. Durr A, Brice A, Serdaru M, Rancurel G, Derouesne C, Lyon-Caen O, Agid Y, Fontaine B. The phenotype of 'pure' autosomal dominant spastic paraplegia. *Neurology.* 1994;44:1274-7
20. Elleuch N, Depienne C, Benomar A, Hernandez AM, Ferrer X, Fontaine B, Grid D, Tallaksen CM, Zemmouri R, Stevanin G, Durr A, Brice A. Mutation analysis of the paraplegin gene (SPG7) in patients with hereditary spastic paraplegia. *Neurology* 2006 14;66:654-9
21. Errico A, Ballabio A, Rugarli EI. Spastin, the protein mutated in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia, is involved in microtubule dynamics. *Hum Mol Genet* 2002;11:153-63
22. Errico A, Claudiani P, D'Addio M, Rugarli EI. Spastin interacts with the centrosomal protein NA14, and is enriched in the spindle pole, the midbody and the distal axon. *Hum Mol Genet* 2004;13:2121-32

23. Filla A, De Michele G, Marconi R, Bucci L, Carillo C, Castellano AE, Iorio L, Kniahynicki C, Rossi F, Campanella G. Prevalence of hereditary ataxias and spastic paraplegias in Molise, a region of Italy. *J Neurol.* 1992;239:351-3
24. Fink JK. Hereditary spastic paraplegia. *Neurol Clin* 2002;20:711-26. Fontaine B, Davoine CS, Durr A, Paternotte C, Feki I, Weissenbach J, Hazan J, Brice A. A new locus for autosomal dominant pure spastic paraplegia, on chromosome 2q24-q34. *Am J Hum Genet.* 2000;66:702-7
25. Fink JK, Rainier S. Hereditary spastic paraplegia: spastin phenotype and function. *Arch Neurol.* 2004;61:830-3
26. Fonknechten N, Mavel D, Byrne P, Davoine CS, Cruaud C, Bonsch D, Samson D, Coutinho P, Hutchinson M, McMonagle P, Burgunder JM, Tartaglione A, Heinzlef O, Feki I, Deufel T, Parfrey N, Brice A, Fontaine B, Prud'homme JF, Weissenbach J, Durr A, Hazan J. Spectrum of SPG4 mutations in autosomal dominant spastic paraplegia. *Hum Mol Genet.* 2000 Mar 1;9(4):637-44
27. Giovagnoli AR, Del Pesce M, Mascheroni S, Simoncelli M, Laiacona M, Capitani E. Trail making test: normative values from 287 normal adult controls. *Ital J Neurol Sci* 1996;17:305-9
28. Hansen JJ, Durr A, Cournu-Rebeix I, Georgopoulos C, Ang D, Nielsen MN, Davoine CS, Brice A, Fontaine B, Gregersen N, Bross P. Hereditary spastic paraplegia SPG13 is associated with a mutation in the gene encoding the mitochondrial chaperonin Hsp60. *Am J Hum Genet.* 2002;70:1328-32
29. Hazan J, Fonknechten N, Mavel D, Paternotte C, Samson D, Artiguenave F, Davoine CS, Cruaud C, Durr A, Wincker P, Brottier P, Cattolico L, Barbe V, Burgunder JM, Prud'homme JF, Brice A, Fontaine B, Heilig B, Weissenbach J. Spastin, a new AAA protein, is altered in the most frequent form of autosomal dominant spastic paraplegia. *Nat Genet* 1999;23:296-303
30. Hentati A, Pericak-Vance MA, Hung WY, Belal S, Laing N, Boustany RM, Hentati F, Ben Hamida M, Siddique T. Linkage of 'pure' autosomal recessive familial spastic paraplegia to chromosome 8 markers and evidence of genetic locus heterogeneity. *Hum Mol Genet.* 1994;3:1263-7
31. Hentati A, Ouahchi K, Pericak-Vance MA, Nijhawan D, Ahmad A, Yang Y, Rimmler J, Hung W, Schlotter B, Ahmed A, Ben Hamida M, Hentati F, Siddique T. Linkage of a commoner form of recessive amyotrophic lateral sclerosis to chromosome 15q15-q22 markers. *Neurogenetics* 1998;2:55-60
32. Hentati A, Deng HX, Zhai H, Chen W, Yang Y, Hung WY, Azim AC, Bohlega S, Tandan R, Warner C, Laing NG, Cambi F, Mitsumoto H, Roos RP, Boustany RM, Ben



- Hamida M, Hentati F, Siddique T. Novel mutations in spastin gene and absence of correlation with age at onset of symptoms. *Neurology* 2000;55:1388-90
33. Higgins JJ, Loveless JM, Goswami S, Nee LE, Cozzo C, De Biase A, Rosen DR. An atypical intronic deletion widens the spectrum of mutations in hereditary spastic paraplegia. *Neurology* 2001;56:1482-5
  34. Hodgkinson CA, Bohlega S, Abu-Amero SN, Cupler E, Kambouris M, Meyer BF, Bharucha VA. A novel form of autosomal recessive pure hereditary spastic paraplegia maps to chromosome 13q14. *Neurology*. 2002;59:1905-9
  35. Howard HC, Mount DB, Rochefort D, Byun N, Dupre N, Lu J, Fan X, Song L, Riviere JB, Prevost C, Horst J, Simonati A, Lemcke B, Welch R, England R, Zhan FQ, Mercado A, Siesser WB, George AL Jr, McDonald MP, Bouchard JP, Mathieu J, Delpire E, Rouleau GA. The K-Cl cotransporter KCC3 is mutant in a severe peripheral neuropathy associated with agenesis of the corpus callosum. *Nat Genet* 2002;32:384-92
  36. Iwabuchi K, Kubota Y, Hanihara T, Nagatomo H. Three patients of complicated form of autosomal recessive hereditary spastic paraplegia associated with hypoplasia of the corpus callosum. *No To Shinkei* 1994;46:941-7
  37. Kang SY, Lee MH, Lee SK, Sohn YH. Levodopa-responsive parkinsonism in hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum. *Parkinsonism Relat Disord* 2004 Oct;10:425-7
  38. Klebe S, Azzedine H, Durr A, Bastien P, Bouslam N, Elleuch N, Forlani S, Charon C, Koenig M, Melki J, Brice A, Stevanin G. Autosomal recessive spastic paraplegia (SPG30) with mild ataxia and sensory neuropathy maps to chromosome 2q37.3. *Brain*. 2006;129:1456-62
  39. Laiacina M., Inzaghi M.G., De Tanti A., Capitani E. Wisconsin card sorting test: a new global score with Italian norms and its relationship with the Weigl sorting test. *Neurol Sci* 2000;21:279-91
  40. LaMonte BH, Wallace KE, Holloway BA, Shelly SS, Ascano J, Tokito M, Van Winkle T, Howland DS, Holzbaur EL. Disruption of dynein/dynactin inhibits axonal transport in motor neurons causing late-onset progressive degeneration. *Neuron* 2002 30;34:715-27
  41. Lindsey JC, Lusher ME, McDermott CJ, White KD, Reid E, Rubinsztein DC, Bashir R, Hazan J, Shaw PJ, Bushby KM. Mutation analysis of the spastin gene (SPG4) in patients with hereditary spastic paraparesis. *J Med Genet* 2000;37:759-65
  42. Lossos A, Stevanin G, Meiner V, Argov Z, Bouslam N, Newman JP, Gomori JM, Klebe S, Lerer I, Elleuch N, Silverstein S, Durr A, Abramsky O, Ben-Nariah Z, Brice

- A. Hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum: reduction of the SPG11 interval and evidence for further genetic heterogeneity. *Arch Neurol* 2006;63:756-60
43. Mannan AU, Krawen P, Sauter SM, Boehm J, Chronowska A, Paulus W, Neesen J, Engel W. ZFYVE27 (SPG33), a novel spastin-binding protein, is mutated in hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet.* 2006;79:351-7
44. Martinez Murillo F, Kobayashi H, Pegoraro E, Galluzzi G, Creel G, Mariani C, Farina E, Ricci E, Alfonso G, Pauli RM, Hoffman EP. Genetic localization of a new locus for recessive familial spastic paraparesis to 15q13-15. *Neurology* 1999;53:50-6
45. McDermott CJ, Grierson AJ, Wood JD, Bingley M, Wharton SB, Bushby KM, Shaw PJ. Hereditary spastic paraparesis: disrupted intracellular transport associated with spastin mutation. *Ann Neurol* 2003;54:748-59
46. McMonagle P., Byrne P., Hutchinson M. Further evidence of dementia in SPG4-linked autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Neurology* 2004;62:407-10
47. McMonagle P, Byrne PC, Fitzgerald B, Webb S, Parfrey NA, Hutchinson M. Phenotype of AD-HSP due to mutations in the SPAST gene: comparison with AD-HSP without mutations. *Neurology* 2000;55:1794-800
48. McNally FJ, Vale RD. Identification of katanin, an ATPase that severs and disassembles stable microtubules. *Cell.* 1993 Nov 5;75(3):419-29
49. McNiven MA, Cao H, Pitts KR, Yoon Y. The dynamin family of mechanoenzymes: pinching in new places. *Trends Biochem Sci* 2000;25:115-20.
50. Mead SH, Proukakis C, Wood N, Crosby AH, Plant GT, Warner TT. A large family with hereditary spastic paraparesis due to a frame shift mutation of the spastin (SPG4) gene: association with multiple sclerosis in two affected siblings and epilepsy in other affected family members. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;71:788-91
51. Meijer IA, Hand CK, Cossette P, Figlewicz DA, Rouleau GA. Spectrum of SPG4 mutations in a large collection of North American families with hereditary spastic paraplegia. *Arch Neurol* 2002;59:281-6
52. Meijer IA, Cossette P, Roussel J, Benard M, Toupin S, Rouleau GA. A novel locus for pure recessive hereditary spastic paraplegia maps to 10q22.1-10q24.1. *Ann Neurol.* 2004;56:579-82
53. Muglia M, Magariello A, Nicoletti G, Patitucci A, Gabriele AL, Conforti FL, Mazzei R, Caracciolo M, Ardito B, Lastilla M, Tedeschi G, Quattrone A. Further evidence that SPG3A gene mutations cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Ann Neurol* 2002;51:794-5

54. Orlacchio A, Kawarai T, Totaro A, Errico A, St George-Hyslop PH, Rugarli EI, Bernardi G. Hereditary spastic paraplegia: clinical genetic study of 15 families. *Arch Neurol* 2004;61:849-55
55. Osterreith P. Le test de copie d'une figure complexe. *Archives de Psychologie* 1944;30:206-356
56. Patel H, Hart PE, Warner T, Allen I, Phillimore HE, Silver JR, Wood NW, Jeffery S, Patton MA, Crosby AH. Silver syndrome is not linked to any of the previously established autosomal dominant hereditary spastic paraplegia loci. *Am J Med Genet.* 2001;102:68-72
57. Patel H, Cross H, Proukakis C, Hershberger R, Bork P, Ciccarelli FD, Patton MA, McKusick VA, Crosby AH. SPG20 is mutated in Troyer syndrome, an hereditary spastic paraplegia. *Nat Genet.* 2002;31:347-8.
58. Patel S, Latterich M. The AAA team: related ATPases with diverse functions. *Trends Cell Biol* 1998;8:65-71
59. Patrono C, Casali C, Tessa A, Cricchi F, Fortini D, Carozzo R, Siciliano G, Bertini E, Santorelli FM. Missense and splice site mutations in SPG4 suggest loss-of-function in dominant spastic paraplegia. *J Neurol* 2002;249:200-5
60. Patrono C, Scarano V, Cricchi F, Melone MA, Chiriaco M, Napolitano A, Malandrini A, De Michele G, Petrozzi L, Giraldi C, Santoro L, Servidei S, Casali C, Filla A, Santorelli FM. Autosomal dominant hereditary spastic paraplegia: DHPLC-based mutation analysis of SPG4 reveals eleven novel mutations. *Hum Mutat* 2005;811
61. Proukakis C, Auer-Grumbach M, Wagner K, Wilkinson PA, Reid E, Patton MA, Warner TT, Crosby AH. Screening of patients with hereditary spastic paraplegia reveals seven novel mutations in the SPG4 (Spastin) gene. *Hum Mutat* 2003;21:170
62. Raff MC, Whitmore AV, Finn JT. Axonal self-destruction and neurodegeneration. *Science* 2002; 296:868-71
63. Rainier S, Chai JH, Tokarz D, Nicholls RD, Fink JK. NIPA1 gene mutations cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia (SPG6). *Am J Hum Genet.* 2003;73:967-71
64. Raven, J.C. Revised manual for Raven's Progressive Matrices and vocabulary scale. Windsor: NFER Nelson 1982
65. Reid E. Science in motion: common molecular pathological themes emerge in the hereditary spastic paraplegias. *J Med Genet* 2003;40:81-6.
66. Reid E, Kloos M, Ashley-Koch A, Hughes L, Bevan S, Svenson IK, Graham FL, Gaskell PC, Dearlove A, Pericak-Vance MA, Rubinsztein DC, Marchuk DA. A kinesin

- heavy chain (KIF5A) mutation in hereditary spastic paraplegia (SPG10). *Am J Hum Genet* 2002;71:1189-94
67. Rey, A. L'examen psychologique dans les cas d'encefalopathie traumatique. *Archives de Psychologie* 1942;28:286-340
  68. Santorelli FM, Patrono C, Fortini D, Tessa A, Comanducci G, Bertini E, Pierallini A, Amabile GA, Casali C. Intrafamilial variability in hereditary spastic paraplegia associated with an SPG4 gene mutation. *Neurology* 2000;55:702-5
  69. Sauter S, Mitterski B, Klimpe S, Bonsch D, Schols L, Visbeck A, Papke T, Hopf HC, Engel W, Deufel T, Epplen JT, Neesen J. Mutation analysis of the spastin gene (SPG4) in patients in Germany with autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Hum Mutat* 2002;20:127-32
  70. Sauter SM, Engel W, Neumann LM, Kunze J, Neesen J. Novel mutations in the Atlastin gene (SPG3A) in families with autosomal dominant hereditary spastic paraplegia and evidence for late onset forms of HSP linked to the SPG3A locus. *Hum Mutat* 2004;23:98
  71. Shibasaki Y, Tanaka H, Iwabuchi K, Kawasaki S, Kondo H, Uekawa K, Ueda M, Kamiya T, Katayama Y, Nakamura A, Takashima H, Nakagawa M, Masuda M, Utsumi H, Nakamuro T, Tada K, Kurohara K, Inoue K, Koike F, Sakai T, Tsuji S, Kobayashi H. Linkage of autosomal recessive hereditary spastic paraplegia with mental impairment and thin corpus callosum to chromosome 15A13-15. *Ann Neurol* 2000 Jul;48:108-12
  72. Simpson MA, Cross H, Proukakis C, Pryde A, Hershberger R, Chatonnet A, Patton MA, Crosby AH. Maspardin is mutated in mast syndrome, a complicated form of hereditary spastic paraplegia associated with dementia. *Am J Hum Genet* 2003;73:1147-56.
  73. Sperfeld AD, Kassubek J, Crosby AH, Winner B, Ludolph AC, Uttner I, Hanemann CO. Complicated hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum: variation of phenotypic expression over time. *J Neurol* 2004;251:1285-7.
  74. Spinnler H., Tognoni G. Standardizzazione e taratura italiana di tests neuropsicologici. *Ital J Neurol Sci* 1987;6 suppl.8
  75. Svenson IK, Ashley-Koch AE, Gaskell PC, Riney TJ, Cumming WJ, Kingston HM, Hogan EL, Boustany RM, Vance JM, Nance MA, Pericak-Vance MA, Marchuk DA. Identification and expression analysis of spastin gene mutations in hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet* 2001;68:1077-85
  76. Svenson IK, Kloos MT, Gaskell PC, Nance MA, Garbern JY, Hisanaga S, Pericak-Vance MA, Ashley-Koch AE, Marchuk DA. Intragenic modifiers of hereditary spastic paraplegia due to spastin gene mutations. *Neurogenetics* 2004;5:157-64

77. Tallaksen CM, Durr A, Brice A. Recent advances in hereditary spastic paraplegia. *Curr Opin Neurol* 2001;14:457-63
78. Tallaksen C.M.E., Guichart-Gomez E., Verpillat P., Hahn-Barma V., Ruberg M., Fontaine B., Brice A., Dubois B., Dürr A. Subtle cognitive impairment but no dementia in patients with spastin mutations. *Arch Neurol* 2003;60:1113-18
79. Tang BS, Chen X, Zhao GH, Shen L, Yan XX, Jiang H, Luo W. Clinical features of hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum: report of 5 Chinese cases. *Chin Med J* 2004;117:1002-5
80. Tedeschi G., Allocca S., Di Costanzo A., Carlomagno S., Merla F., Petretta V., Toriello A., Tranchino G., Ambrosio G., Bonavita V. Multisystem involvement of the central nervous system in Strümpell's disease: a neurophysiological and neuropsychological study. *J Neurol Sci* 1991;103:55-60
81. Teive HA, Iwamoto FM, Della Coletta MV, Camargo CH, Bezerra RD, Minguetti G, Werneck LC. Hereditary spastic paraplegia associated with thin corpus callosum. *Arq Neuropsiquiatr* 2001;59:790-2
82. Tessa A, Casali C, Damiano M, Bruno C, Fortini D, Patrono C, Cricchi F, Galoppi M, Nappi G, Amabile GA, Bertini E, Santorelli FM. SPG3A: An additional family carrying a new atlastin mutation. *Neurology* 2002;59:2002-5
83. Vazza G, Zortea M, Boaretto F, Micaglio GF, Sartori V, Mostacciuolo ML. A new locus for autosomal recessive spastic paraplegia associated with mental retardation and distal motor neuropathy, SPG14, maps to chromosome 3q27-q28. *Am J Hum Genet.* 2000;67:504-9
84. Venneri A., Molinari M.A., Pentore R., Cotticelli B., Nichelli P., Caffarra P. Shortened Stroop Colorword Test: Its Application in Alzheimer's Disease. *Adv Hum Biosci* 1993;87:81-2
85. Webb S, Coleman D, Hutchinson J, Hutchinson M. 'Pure' autosomal dominant spastic paraplegia with late-onset dementia: a family study. *Ann Neurol* 1996;40:5
86. Webb S, Coleman D, Byrne P, Parfrey N, Burke T, Hutchinson J, Hutchinson M. Autosomal dominant hereditary spastic paraparesis with cognitive loss linked to chromosome 2p. *Brain* 1998;121:601-9
87. Webb S, Hutchinson M. Cognitive impairment in families with pure autosomal dominant hereditary spastic paraparesis. *Brain* 1998;121:923-9
88. Wechsler D. Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised. Organizzazioni Speciali, Firenze

89. White KD, Ince PG, Lusher M, Lindsey J, Cookson M, Bashir R, Shaw PJ, Bushby KM. Clinical and pathologic findings in hereditary spastic paraparesis with spastin mutation. *Neurology* 2000;55:89-94
90. Wilkinson PA, Crosby AH, Turner C, Bradley LJ, Ginsberg L, Wood NW, Schapira AH, Warner TT. A clinical, genetic and biochemical study of SPG7 mutations in hereditary spastic paraplegia. *Brain* 2004;127:973-80
91. Windpassinger C, Wagner K, Petek E, Fischer R, Auer-Grumbach M. Refinement of the Silver syndrome locus on chromosome 11q12-q14 in four families and exclusion of eight candidate genes. *Hum Genet.* 2003;114:99-109
92. Winner B, Gross C, Uyanik G, Schulte-Mattler W, Lurding R, Marienhagen J, Bogdahn U, Windpassinger C, Hehr U, Winkler J. Thin corpus callosum and amyotrophy in spastic paraplegia-Case report and review of literature. *Clin Neurol Neurosurg.* 2005;108:692-8
93. Winner B, Uyanik G, Gross C, Lange M, Schulte-Mattler W, Schuierer G, Marienhagen J, Hehr U, Winkler J. Clinical progression and genetic analysis in hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum in spastic gait gene 11 (SPG11). *Arch Neurol* 2004;61:117-21
94. Yip AG, Durr A, Marchuk DA, Ashley-Koch A, Hentati A, Rubinsztein DC, Reid E. Meta-analysis of age at onset in spastin-associated hereditary spastic paraplegia provides no evidence for a correlation with mutational class. *J Med Genet.* 2003;40:e106
95. Zhao X, Alvarado D, Rainier S, Lemons R, Hedera P, Weber CH, Tükel T, Apak M, Heiman-Patterson T, Ming L, Bui M, Fink JK. Mutations in a newly identified GTPase gene cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Nat Genet* 2001;29:326-31
96. Zhao C, Takita J, Tanaka Y, Setou M, Nakagawa T, Takeda S, Yang HW, Terada S, Nakata T, Takei Y, Saito M, Tsuji S, Hayashi Y, Hirokawa N. Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bbeta. *Cell* 2001;105:587-97
97. Zhu PP, Patterson A, Lavoie B, Stadler J, Shoeb M, Patel R, Blackstone C. Cellular localization, oligomerization, and membrane association of the hereditary spastic paraplegia 3A (SPG3A) protein atlastin. *J Biol Chem* 2003 5;278:49063-71
98. Zortea M, Vettori A, Trevisan CP, Bellini S, Vazza G, Armani M, Simonati A, Mostacciuolo ML. Genetic mapping of a susceptibility locus for disc herniation and spastic paraplegia on 6q23.3-q24.1. *J Med Genet.* 2002;39:387-90

99. Zuchner S, Wang G, Tran-Viet KN, Nance MA, Gaskell PC, Vance JM, Ashley-Koch AE, Pericak-Vance MA. Mutations in the novel mitochondrial protein REEP1 cause hereditary spastic paraplegia type 31. *Am J Hum Genet.* 2006;79:365-9

## Bibliografia parte 2

1. Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJ, Yang KT, Lee C, Hudson R, et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X Study: preliminary data. *Am J Med Genet* 1999;83:322–325
2. Bennetto L, Pennington BF, Porter D, Taylor AK, Hagerman RJ. Profile of cognitive functioning in women with the fragile X mutation. *Neuropsychology* 2001;15:290–299
3. Berry-Kravis E, Lewin F, Wu J, Leehey M, Hagerman R, Hagerman P, Goetz CG. Tremor and ataxia in fragile X premutation carriers: blinded videotape study. *Ann Neurol* 2003;53:616–623
4. Bodega B, Bione S, Dalpra L, Toniolo D, Ornaghi F, Vegetti W, Ginelli E, Marozzi A. Influence of intermediate and uninterrupted FMR1 CGG expansions in premature ovarian failure manifestation. *Hum Reprod* 2006;21:952-7
5. Bontekoe CJ, Bakker CE, Nieuwenhuizen IM, van Der Linde H, Lans H, de Lange D, Hirst MC and Oostra BA. Instability of a (CGG)(98) repeat in the Fmr1 promoter. *Hum Mol Genet* 2001;10:1693–1699
6. Bretherick KL, Fluker MR, Robinson PW. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Hum Genet* 2005;117: 376–382
7. Brunberg JA, Jacquemont S, Hagerman RJ, Berry-Kravis EM, Grigsby J, Leehey MA, Tassone F, Brown WT, Greco CM, Hagerman PJ. Fragile X premutation carriers: characteristic MR imaging findings of adult male patients with progressive cerebellar and cognitive dysfunction. *AJNR AmJ Neuroradiol* 2002;23:1757–1766
8. Brussino A, Gellera C, Saluto A, Mariotti C, Arduino C, Castellotti B, Camerlingo M, de Angelis V, Orsi L, Tosca P, Migone N, Taroni F, Brusco A. FMR1 gene premutation is a frequent genetic cause of late-onset sporadic cerebellar ataxia. *Neurology* 2005;64:145-7
9. Calado A, Tome FM, Brais B, Rouleau GA, Kuhn U, Wahle E, Carmo-Fonseca M. Nuclear inclusions in oculopharyngeal muscular dystrophy consist of poly(A) binding protein 2 aggregates which sequester poly(A) RNA. *Hum Mol Genet.* 2000;9:2321-8
10. Coppola G, Filla A. Disorders of the cerebellum. In RC Griggs, and RJ Joint. Baker and Joint's clinical neurology on CD-ROM. Lippincott, Williams and Wilkins
11. Crawford DC, Zhang F, Wilson B, Warren ST, Sherman SL Fragile X CGG repeat structures among African-Americans: identification of a novel factor responsible for repeat instability. *Hum Mol Genet* 2000;9:1759–1769



12. Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, DiFiglia M, Sharp AH, Ross CA, Scherzinger E, Wanker EE, Mangiarini L and Bates GP Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 1997;90, 537–548
13. Franke P, Leboyer M, Gansicke M, Weiffenbach O, Biancalana V, Cornillet-Lefebvre P, Croquette MF, Froster U, Schwab SG, Poustka F, Hautzinger M, Maier W. Genotype-phenotype relationship in female carriers of the permutation and full mutation of *FMR-1*. *Psychiatry Res* 1998;80:113–127
14. Garland EM, Vnencak-Jones CL, Biaggioni I, Davis TL, Montine TJ, Robertson D. Fragile X gene premutation in multiple system atrophy. *J Neurol Sci* 2004;227:115-8
15. Garcia Arocena D, Louis ED, Tassone F, Gilliam TC, Ottman R, Jacquemont S, Hagerman PJ. Screen for expanded FMR1 alleles in patients with essential tremor. *Mov Disord* 2004;19:930-3
16. Gilman S, Low P, Quinn N, Albanese A, Ben-Shlomo Y, Fowler C, Kaufmann H, Klockgether T, Lang A, Lantos P, Litvan I, Mathias C, Oliver E, Robertson D, Schatz I, Wenning G. Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. American Autonomic Society and American Academy of Neurology. *Clin Auton Res* 1998;8:359-62
17. Greco CM, Hagerman RJ, Tassone F, Chudley AE, Del Bigio MR, Jacquemont S, Leehey M, Hagerman PJ. Neuronal intranuclear inclusions in a new cerebellar tremor/ataxia syndrome among fragile X carriers. *Brain* 2002;125:1760–1771
18. Hagerman RJ, Leehey M, Heinrichs W, Tassone F, Wilson R, Hills J, Grigsby J, Gage B, Hagerman PJ. Intention tremor, parkinsonism, and generalized brain atrophy in male carriers of fragile X. *Neurology* 2001;57:127–130
19. Hagerman RJ Physical and behavioral phenotype in Fragile X syndrome: diagnosis, treatment and research. Hagerman RJ, Hagerman PJ (eds). The Johns Hopkins University Press, 2002, Baltimore, 3–109
20. Hagerman RJ and Hagerman PJ. The fragile X premutation: into the phenotypic fold. *Curr. Opin Genet Dev* 2002b;12:278–283
21. Hagerman PJ and Hagerman RJ. The fragile-X premutation: a maturing perspective. *Am. J. Hum Genet* 2004;74:805–816
22. Hagerman RJ, Leavitt BR, Farzin F, Jacquemont S, Greco CM, Brunberg JA, Tassone F, Hessler D, Harris SW, Zhang L, Jardini T, Gane LW, Ferranti J, Ruiz L, Leehey MA, Grigsby J, Hagerman PJ Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in females with the FMR1 premutation. *Am J Hum Genet* 2004b;74:1051–1056

23. Hall DA, Berry-Kravis E, Jacquemont S, Rice CD, Cogswell J, Zhang L, Hagerman RJ, Hagerman PJ, Leehey MA. Initial diagnoses given to persons with the fragile X associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Neurology* 2005 Jul;65:299-301
24. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, Brunberg JA, Greco C, Des Portes V, Jardini T, Levine R, Berry-Kravis E, Brown WT, Schaeffer S, Kissel J, Tassone F, Hagerman PJ Fragile X premutation tremor/ataxiasyndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates. *Am J Hum Genet* 2003;72:869-878
25. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey MA, Hall DA, Levine RA, Brunberg JA, Zhang L, Jardini T, Gane LW, Harris SW, Herman K, Grigsby J, Greco C, Berry-Kravis E, Tassone F, Hagerman PJ Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in a premutation carrier population: initial results from a California family-based study. *JAMA* 2004;291:460-469
26. Kamm C, Healy DG, Quinn NP, Wullner U, Moller JC, Schols L, Geser F, Burk K, Borglum AD, Pellecchia MT, Tolosa E, del Sorbo F, Nilsson C, Bandmann O, Sharma M, Mayer P, Gasteiger M, Haworth A, Ozawa T, Lees AJ, Short J, Giunti P, Holinski-Feder E, Illig T, Wichmann HE, Wenning GK, Wood NW, Gasser T; European Multiple System Atrophy Study Group. The fragile X tremor ataxia syndrome in the differential diagnosis of multiple system atrophy: data from the EMSA Study Group. *Brain* 2005;128:1855-60
27. Koyano S, Iwabuchi K, Yagishita S, Kuroiwa Y. and Uchihara T. Paradoxical absence of nuclear inclusion in cerebellar Purkinje cells of hereditary ataxias linked to CAG expansion. *J. Neurol Neurosurg Psychiat* 2002;73:450-452
28. Leehey MA, Munhoz RP, Lang AE, Brunberg JA, Grigsby J, Greco C, Jacquemont S, Tassone F, Lozano AM, Hagerman PJ, Hagerman RJ The fragile X premutation presenting as essential tremor. *Arch Neurol* 2003;60:117-121
29. Loesch DZ, Hay DA, Mulley J Transmitting males and carrier females in fragile X: revisited. *Am J Med Genet* 1994;51: 392-399
30. Macpherson J, Waghorn A, Hammans S, Jacobs P. Observation of an excess of fragile-X premutations in a population of males referred with spinocerebellar ataxia. *Hum Genet* 2003;112:619-20
31. Marozzi A, Vegetti W, Manfredini E, Tibiletti MG, Testa G, Crosignani PG, Ginelli E, Meneveri R, Dalpra L Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod* 2000;15:197-202
32. Muller-Hartmann H, Deissler H, Naumann F, Schmitz B, Schroer J. and Doerfler W. The human 20-kDa 50-(CGG)(n)-30-binding protein is targeted to the nucleus and affects the activity of the FMR1 promoter. *J Biol Chem* 2000;275:6447-6452

33. Napierala M, Michalowski D, de Mezer M, Krzyzosiak WJ: Facile FMR1 mRNA structure regulation by interruptions in CGG repeats. *Nucleic Acids Res* 2005;33:451–463
34. Nolin SL, Brown WT, Glicksman A, Houck GE Jr, Gargano AD, Sullivan A, Biancalana V, Brondum-Nielsen K, Hjalgrim H, Holinski-Feder E, Kooy F, Longshore J, Macpherson J, Mandel J-L, Matthijs G, Rousseau F, Steinbach P, Van den Berghe M-L, von Koskull H, Sherman SL Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles. *Am J Hum Genet* 2003;72:454–464
35. Oostra BA, Willemsen R. A fragile balance: FMR1 expression levels. *Hum Mol Genet*. 2003;12 Spec No 2:R249-57.
36. Petersen A, Larsen KE, Behr GG, Romero N, Przedborski S, Brundin P and Sulzer D. Expanded CAG repeats in exon 1 of the Huntington's disease gene stimulate dopamine-mediated striatal neuron autophagy and degeneration. *Hum Mol Genet* 2001;10:1243–1254
37. Ranum LP and Day JW. Dominantly inherited, non-coding microsatellite expansion disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12:266–271
38. Reiss AL, Freund L, Abrams MT, Boehm C, Kazazian H. Neurobehavioral effects of the fragile X premutation in adult women: a controlled study. *Am J Hum Genet* 1993;52:884–894
39. Riddle JE, Cheema A, Sobesky WE, Gardner SC, Taylor AK, Pennington BF, Hagerman RJ Phenotypic involvement in females with the FMR1 gene mutation. *Am J Ment Retard* 1998;102:590–601
40. Rosser TC, Johnson TR and Warren ST A cerebellar FMR1 riboCGG binding protein. *Am J Hum Genet* 2002;71:507.
41. Schmidt T, Lindenberg KS, Krebs A, Schols L, Laccone F, Herms J, Rechsteiner M, Riess O and Landwehrmeyer GB. Protein surveillance machinery in brains with spinocerebellar ataxia type 3: redistribution and differential recruitment of 26S proteasome subunits and chaperones to neuronal intranuclear inclusions. *Ann Neurol* 2002;51:302–310
42. Sobesky WE. The treatment of emotional and behavioural problems. In: Hagerman RJ, Cronister A (eds) *Fragile X syndrome: diagnosis, treatment, and research*, 2nd ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1996, pp 332–348
43. Takahashi J, Fujigasaki H, Zander C, El Hachimi KH, Stevanin G, Durr A, Lebre AS, Yvert G, Trottier Y, The H et al. Two populations of neuronal intranuclear inclusions

in SCA7 differ in size and promyelocytic leukaemia protein content. *Brain* 2002;125:1534–1543

44. Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Mills JB, Harris SW, Gane LW, Hagerman PJ. Clinical involvement and protein expression in individuals with the *FMR1* premutation. *Am J Med Genet* 2000;91:144–152
45. Willemsen R, Hoogeveen-Westerveld M, Reis S, Holstege J, Severijnen L, Nieuwenhuizen I, Schrier M, VanUnen L, Tassone F, Hoogeveen A et al. The FMR1 CGG repeat mouse displays ubiquitin-positive intranuclear neuronal inclusions; implications for the cerebellar tremor/ataxia syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:949–959
46. Zhong N, Yang W, Dobkin C, Brown WT. Fragile X gene instability: anchoring AGGs and linked microsatellites. *Am J Hum Genet* 1995;57:351–361
47. Van Esch H, Dom R, Bex D, Salden I, Caeckebeke J, Wibail A, Borghgraef M, Legius E, Fryns JP, Matthijs G. Screening for FMR-1 premutations in 122 older Flemish males presenting with ataxia. *Eur J Hum Genet* 2005;13:121-3
48. Yabe I, Soma H, Takei A, Fujik N, Sasaki H. No association between FMR1 premutations and multiple system atrophy. *J Neurol* 2004;251:1411-2

## Prodotti

1. Casali C, Valente EM, Bertini E, Montagna G, Criscuolo C, De Michele G, Villanova M, Damiano M, Pierallini A, Brancati F, Scarano V, Tessa A, Cricchi F, Grieco GS, Muglia M, Carella M, Martini B, Rossi A, Amabile GA, Nappi G, Filla A, Dallapiccola B, Santorelli FM. Clinical and genetic studies in hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum. *Neurology*. 2004;62:262-8.
2. Criscuolo C, Banfi S, Orio M, Gasparini P, Monticelli A, Scarano V, Santorelli FM, Perretti A, Santoro L, De Michele G, Filla A. A novel mutation in SACS gene in a family from southern Italy. *Neurology*. 2004;13:100-2
3. Muglia M, Criscuolo C, Magariello A, De Michele G, Scarano V, D'Adamo P, Ambrosio G, Gabriele AL, Patitucci A, Mazzei R, Conforti FL, Sprovieri T, Morgante L, Epifanio A, La Spina P, Valentino P, Gasparini P, Filla A, Quattrone. Narrowing of the critical region in autosomal recessive spastic paraplegia linked to the SPG5 locus. *Neurogenetics*. 2004;5:49-54
4. Pellecchia MT, Valente EM, Cif L, Salvi S, Albanese A, Scarano V, Bonuccelli U, Bentivoglio AR, D'Amico A, Marelli C, Di Giorgio A, Coubes P, Barone P, Dallapiccola B. The diverse phenotype and genotype of pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Neurology*. 2005 May 24;64:1810-2
5. Patrono C, Scarano V, Cricchi F, Melone MA, Chiriaco M, Napolitano A, Malandrini A, De Michele G, Petrozzi L, Giraldi C, Santoro L, Servidei S, Casali C, Filla A, Santorelli FM. Autosomal dominant hereditary spastic paraplegia: DHPLC-based mutation analysis of SPG4 reveals eleven novel mutations. *Hum Mutat*. 2005 May;25(5):506
6. Coppola G, Criscuolo C, De Michele G, Striano S, Barbieri F, Striano P, Perretti A, Santoro L, Brescia Morra V, Sacca F, Scarano V, D'Adamo AP, Banfi S, Gasparini P, Santorelli FM, Lehesjoki AE, Filla A. Autosomal recessive progressive myoclonus epilepsy with ataxia and mental retardation. *J Neurol*. 2005 Aug;252(8):897-900
7. Scarano V, Mancini P, Criscuolo C, De Michele G, Rinaldi C, Tucci T, Tessa A, Santorelli FM, Perretti A, Santoro L, Filla A. The R495W mutation in SPG3A causes spastic paraplegia associated with axonal neuropathy. *J Neurol*. 2005 Aug;252(8):901-3
8. Stevanin G, Montagna G, Azzedine H, Valente EM, Durr A, Scarano V, Bouslam N, Cassandrini D, Denora PS, Criscuolo C, Belarbi S, Orlacchio A, Jonveaux P, Silvestri G, Hernandez AM, De Michele G, Tazir M, Mariotti C, Brockmann K, Malandrini A, van der Knapp MS, Neri M, Tonekaboni H, Melone MA, Tessa A, Dotti MT, Tosetti M, Pauri F, Federico A, Casali C, Cruz VT, Loureiro JL, Zara F, Forlani S, Bertini E, Coutinho P, Filla A, Brice A, Santorelli FM. Spastic paraplegia with thin corpus callosum: description of 20 new families, refinement of the SPG11 locus, candidate gene analysis and evidence of genetic heterogeneity. *Neurogenetics* 2006;7:149-156
9. Lanzillo R, Prinster A, Scarano V, Liuzzi R, Coppola G, Florio C, Salvatore E, Schiavone V, Brunetti A, Muto M, Orefice G, Alfano B, Bonavita V, Brescia Morra V. Neuropsychological assessment, quantitative MRI and ApoE gene polymorphisms in a series of MS patients treated with IFN beta-1b. *J Neurol Sci* 2006;245:141-5
10. Alviggi C, Carrieri PB, Pivonello R, Scarano V, Pezzella M, De Placido G, Colao A, Matarese G. Association of pelvic endometriosis with alopecia universalis, autoimmune thyroiditis and multiple sclerosis. *J Endocrinol Invest*. 2006;29:182-9

## **Ringraziamenti**

Si ringraziano: il dott. FM. Santorelli ed il suo gruppo di lavoro, la dott.ssa C. Criscuolo, il dott. P. Mancini, la dott.ssa C. Cristinzio, la dott.ssa N. Fragassi, il prof. D. Grossi, il prof. A. Filla

Tabella 1. Paraparesi spastiche autosomiche dominanti: classificazione genetica

<b>Gene</b>	<b>Loc. Cr.</b>	<b>N° famiglie</b>	<b>Fenotipo</b>	<b>Esordio</b>	<b>Segni aggiuntivi</b>
<i>SPG3A</i> /atlastina	14q11-q21	Comune	Puro	1-2° decade	neuropatia
<i>SPG4</i> /spastina	2p22-p21	>50 mutazioni descritte	Puro	3-5 decade	Deficit cognitivi (40%)
<i>SPG6</i> /NIPA1	15q11.1	Alcune famiglie di origine irlandese e irachena	Puro	12-35 anni	Disturbi vescicali
<i>SPG8</i>	8q23-q24	2 famiglie, nord-americana e inglese	Puro	22-60 anni	Disturbi vescicali
<i>SPG9</i>	10q23.3-q24.2	Alcune famiglie italiane e inglesi	Complicato	Infanzia-4° decade	Cataratta, reflusso gastro-esofageo, amiotrofia degli arti
<i>SPG10</i> /KIF5A	12q13	1 famiglia	Pura	8-40 anni	Segni cerebellari
<i>SPG12</i>	19q13	2	Pura	7 anni	Rari segni cerebellari
<i>SPG13</i> /HSPD1	2q24-q34	1 famiglia francese	Pura	17-68	Rari disturbi vescicali
<i>SPG17</i> /BSCL2 seipina	11q13	>10 famiglie	Complicato	2-40 anni	Amiotrofia mani e piedi
<i>SPG19</i>	9 q33-q34	1 famiglia italiana	Puro	36-55 anni	Disturbi vescicali (100%)
<i>SPG29</i>	1p31.1-21.1	1 famiglia scozzese	Puro/complicato	2-3° decade	Disturbi vescicali; ernia paraesofagea
<i>SPG31</i> /REEP31	2q12	6 famiglie europee	Puro	Da 3 anni alla sesta decade	-
<i>SPG33</i> /ZFYVE27	10q24.2	1 famiglia tedesca	Pura	Adulto	-
<i>SPG12q</i>	Cr. 12 q	1	Complicata	30 anni	amiotrofia

Tabella 2. Paraparesi spastiche autosomiche recessive: classificazione genetica

Gene	Loc. Cr.	N° famiglie	Fenotipo	Esordio	Segni aggiuntivi
<i>SPG5</i>	8q12	12	Puro/complicato	1-40	-
<i>SPG7</i> /paraplegina	16q24.3	7	Puro/complicato	11-42	Piede cavo, atrofia ottica, segni cerebellari, dist. sfinterici, disfagia
<i>SPG11</i>	15q13-q15	23	Complicato	1-50	Ritardo mentale, piede cavo, TCC
<i>SPG14</i>	3q27-q28	1	Complicato	30	Piede cavo, ritardo mentale, agnosia visiva, deficit mnesici
<i>SPG15</i>	14q22-q24	2	Complicato	13-23	Deterioramento mentale, maculopatia pigmentaria, TCC e atrofia del tronco encefalico
<i>SPG20</i> /spartina	13q-12.3	n.a. (frequente nella popolazione Amish)	Complicato	Infanzia precoce	Ritardo mentale, bassa statura
<i>SPG21</i> /maspardina	15q21-q22	1 (nella popolazione Amish)	Complicato	20-40	Sindrome extrapiramidale, demenza, TCC, iperintensità della sostanza bianca periventricolare, distonia, corea, amiotrofia delle mani
<i>SPG23</i>	1q24-q32	1	Complicato	Infanzia precoce	Anomalie della pigmentazione delle cute e dei capelli, dimorfismi facciali e schel., tremore posturale, alterazioni cognitive
<i>SPG24</i>	13q14	1	Puro	1	-
<i>SPG25</i>	6q23-q24.1	1	Complicato	30-46	Ernie discali multiple, cataratta bilaterale, glaucoma congenito
<i>SPG26</i>	12p11.1-12q14	1	Complicato	22-42	Labilità emotiva, tremore linguale, lievi deficit cognitivi
<i>SPG27</i>	10q22.1-q24.1	2	Puro/complicato	2-45	Ritardo mentale, microcefalia, dismorfismi facciali, blefarofimosi
<i>SPG28</i>	14q21.3-q22.3	1	Puro	6-15	-
<i>SPG30</i>	2q37.3	1	Complicato	12-21	Neuropatia periferica, atassia



Tabella 3. Paraparesi spastiche autosomiche dominanti: revisione della casistica

Famiglia	Locus/ gene	N°affetti	Esordio	Altri segni e sintomi	EMG- VCM- VCS	PESS	VEP	MEP	BAEP	RM-E	RM- M	ALTRO
Am		3	8, 8, 8	-	N	N	N	N	N	N	N	-
Ar		2	7, 20	Amiotrofia arti	P	NP	NP	P	NP	NP	NP	Piede piatto
Av	SPG9	4	5, 5, 5, 7	Cataratta, retinopatia, RGE, cardiopatia	P	P	NP	P	P	N	NP	
Bu		3	20, 26, 54	-	P	N	N	P	N	N	N	Piede cavo e scoliosi
Ca		1	10	-	N	N	N	P	NP	N	N	Scoliosi, dita a martello
Cu		1	58	Ipotrofia AAIL; dist. sfint.	P	P	NP	P	NP	N	N	Piede cavo
Dab		2	58, 25, 50	-	P	N	NP	NP	NP	N	NP	
Del		3	20, 10, 11	-	P	N	N	P	N	N	NP	
Fa	SPG17?	3	5, 4, 5	Amiotrofia distale	P	N	N	P	N	N	N	Piede cavo, scoliosi
Fe	SPG3A	4	3, 7, 3	Neuropatia periferica	P	N	N	P	NP	N	N	-
Gag		3	44, 38, 38	Oligofrenia	N	N	Np	Np	NP	N	N	-
Gam		3	29, 21, 14	-	N	N	NP	P	NP	N	N	Piede cavo
Gat		1	37	-	N	N	N	P	N	Atrofia cerebellare	N	-
Gir		2	19, 38	-	N	N	N	-	N	N	N	Scoliosi, piede cavo
Gr		2	18	-	NP	N	N	P	N	N	N	Piede cavo, scoliosi
La	SPG4	2	51, 50	-	N	N	N	P	-	N	N	scoliosi
Mac	SPG4	1	46	-	N	N	N	P	N	N	N	Piede cavo
Mar		3	12, 6, 12	-	P	NP	NP	NP	NP	NP	NP	piede cavo
Mas		2	40, 8	-	N	NP	NP	NP	NP	NP	NP	-
PelC	SPG4	1	54	-	N	N	N	P	NP	N	N	-
PelS	SPG4	1	30	-	N	N	NP	P	NP	N	N	Scoliosi, piede cavo
Ric		10	Inf-30 a	-	N e P	N	N	N e P	N	N	N	Piede cavo
Ro	SPG4	2	30, 15	-	N	N	P	N	N	N	N	-
Sp		2	20, 12	Segni frontali	N	P	P	P	P	N	NP	Piede cavo
Va		5	39, 40, 46, 18, 48	-	N	N	P	P	N	SB	Atrofia	Piede cavo
To		3	14, 3, 2	Ritardo mentale, amiotrofia	N	N	N	P	N	SB	N	Piede cavo

N= normale; NP= non praticato; SB= alterazioni della sostanza bianca sottocorticale; EMG-VCM-VCS= elettromiografia, studio delle velocità di conduzione, motoria e sensitiva; PESS= potenziali evocati somato sensitivi; VEP= potenziali evocati visivi; MEP= potenziali evocati motori; BAEP= potenziali evocati di tronco; RM-E= risonanza magnetica encefalo; RM-M= risonanza magnetica midollo spinale

Tabella 4. Paraparesi spastiche autosomiche recessive: revisione della casistica

Famiglia	Locus/ gene	N°affetti	Cons..	Esordio	Altri segni e sintomi	EMG- VCM- VCS	PESS	VEP	MEP	BAEP	RM-E	RM- M	ALTRO
Ab		1	Si	48	-	NP	Centrale	P	P	N	N	N	
Bei		2	No	11, 16	Oligofrenia, ipoacusia, TCC	P	NP	NP	NP	P	TCC, SB	N	Piede cavo
Ca	TCC	1	No	15	Oligofrenia, neuropatia	P	P	NP	P	NP	TCC	NP	Piede cavo
Co		1	No	20	-	N	N	NP	P	NP	N	N	Piede cavo
Cu	TCC	1	No	12	Oligofrenia, TCC	P	N	N	P	N	TCC, SB	N	
Da		2	No	<1	Oligofrenia, atrofia ottica, strabismo	P	NP	P	P	N	TCC	NP	
De		2	No	32	-	P	NP	N	NP	NP	NP	N	
Del		2	No	8, 13	Oligofrenia, psicosi	P	NP	NP	NP	NP	N	Np	Piede cavo, scoliosi
Di	SPG7	2	No	25, 25	Disturbo frontale, corde tendinee false, ipoacusia, crampo dello scrivano	N	P	NP	P	P	Atrofia cerebellare	Np	Piede cavo, scoliosi
Dis	SPG7	6	Si	40, 36, 26, 27, 25, 4	Neuropatia, disturbi sfinterici	P	NP	NP	NP	NP	NP	NP	Piede cavo, scoliosi
Do	TCC	1	No	Infanzia	Ritardo mentale, neuropatia	P	P	NP	P	NP	TCC	N	scoliosi
El	TCC	1	No	29	-	N	N	N	P	N	TCC	N	Piede cavo
Er		2	No	16, 2	Oligofrenia, ipoacusia	N	P	P	N	P	N	N	Piede cavo, scoliosi
Fi		2	No	33, 41	-	N	P	N	P	N	N	N	
Ga	TCC	3	Si	5,5,5	Oligofrenia, atrofia ottica, TCC	N	NP	NP	NP	NP	Atrofia sopra e sotto tentoriale, TCC, SB	NP	
Ma		2	No	16	Distonia del collo	N	P	NP	P	NP	N	N	Scoliosi, piede cavo
Or		1	Si	46	-	NP	NP	NP	P	NP	Atrofia cerebellare	NP	Scoliosi
Pa	SPG11	2	No	16, 19	Demenza	P	P	N	P	N	TCC, atrofia corticale	N	Scoliosi, piede piatto
Pe	SPG11	2	No	infanzia	Oligofrenia, distonia focale	P	N	N	P	N	TCC	N	Scoliosi, piede cavo
Ru		2	No	24, 36	Coreoatetosi, demenza	N	NP	NP	P	N	Atrofia frontale, SB	N	Piede piatto
Sa		2	No	46	-	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	-
San	SPG5	1	Si	3	-	N	P	P	P	NP	N	NP	-
Sc		1	Si	Infanzia	-	P	NP	NP	P	NP	NP	Atrofia	Piede cavo
Si	SPG5	3	No	22,7,17	-	N	P	NP	NP	NP	NP	N	Piede cavo
Sp	TCC	2	No	12, 15	Oligofrenia	P	N	N	P	N	TCC	NP	Piede cavo
Tu		1	Si	11	-	P	NP	N	P	N	N	NP	Piede cavo

N= normale; NP= non praticato; Cons= consanguineità; TCC= corpo calloso sottile; SB= alterazioni della sostanza bianca sottocorticale; EMG-VCM-VCS= elettromiografia, studio delle velocità di conduzione, motoria e sensitiva; PESS= potenziali evocati somato sensitivi; VEP= potenziali evocati visivi; MEP= potenziali evocati motori; BAEP= potenziali evocati di tronco; RM-E= risonanza magnetica encefalo; RM-M= risonanza magnetica midollo spinale

Tabella 5. Screening HSP-AD per mutazioni *SPG4*: caratteristiche cliniche e genetiche dei pazienti

Pazienti	Esordio Anni	Punteggio clinico	Fenotipo	Mutazione	Effetto (proteina)	Esone	Referenza
Pz. 1	30	3	Puro	<b><u>c.1333_1357delAAG (famiglia PelC)</u></b>	<b>p.Glu452del</b>	11	
Pz. 2	35	2	Puro	c.1413+G>A	<b>Sito di splicing</b>	11(i)	
Pz. 3,9	27, 33	3, 4	Puro	c.1215_1219delTATAA	p.Asp405fs	9	Fonknechten et al, 2000
Pz. 4	20	3	Pura sporadica	<b><u>c.1270_1271dupAG (famiglia PelS)</u></b>	<b>p.Gly425fs</b>	10	
Pz. 5	44	2	Puro	<b><u>c.1493+2_1493+5insATGG (famiglia Ro)</u></b>	<b>Sito di splicing</b>	12 (i)	
Pz. 6	38	2	puro	<b>c.1376G&gt;C</b>	<b>p.Arg459Thr</b>		
Pz. 7	45	3	Puro	c.1667C>T	p.Ala556Val	15	Fonknechten et al, 2000
Pz. 8	33	3	Puro	<b><u>c.421C&gt;T (famiglia La)</u></b>	<b>p.Gln141X</b>	2	
Pz. 10	46	3	Puro	<b>c.1821G&gt;A</b>	<b>p.Trp607X</b>	17	
Pz. 11	28	2	Puro	c.1413+3_1413+6delAAGT	Sito di splicing	11 (i)	Fonknechten et al, 2000
Pz. 12	28	2	Puro	c.1307C>T	p.Ser436Phe	10	Hentati et al. 2000
Pz. 13, 15,9	34, 44, 42	3,3,4	Puro	<b><u>c.1728+1G&gt;A (famiglia Ma)</u></b>	Sito di splicing	16 (i)	Fonknechten et al, 2000
Pz. 14	45	3	Puro	<b>c.373G&gt;T</b>	<b>p.Glu125X</b>	1	
Pz. 16	33	2	Puro	c.1536+1G>T	Sito di splicing	13 (i)	Fonknechten et al, 2000
Pz. 17	39	3	Puro	c.1379G>T	p.Arg460Leu	11	Fonknechten et al, 2000
Pz. 18	33	2	Puro	c.1291C>T	p.arg431X	10	Fonknechten et al, 2000
Pz. 20	45	3	Puro	<b>c.439G&gt;T</b>	<b>p.Glu147X</b>	2	
Pz. 21	29	2	Puro	c.1270>G	p.Arg424Gly	12	White et al, 2000
Pz. 22	28	2	Puro	c.1276C>G	p.Leu426Val	10	Fonknechten et al, 2000
Pz. 23	35	3	Puro	<b>c.1471C&gt;T</b>	<b>p.Arg581X</b>	17	
Pz. 24	41	3	Puro	<b>c.334G&gt;A</b>	<b>p.Glu112Lys</b>	1	

La nomenclatura delle mutazioni si riferisce alla sequenza del c-DNA con la A del codone di inizio della traduzione indicato come +1. Le nuove mutazioni sono in grassetto; le mutazioni sottolineate sono relative a pazienti della casistica napoletana. (i): sequenze introniche. Il punteggio clinico è calcolato come in Lindsey et al, 2000.

Tabella 6: caratteristiche cliniche dei pazienti *SPG3A*

<b>Paziente</b>	<b>II-1</b>	<b>II-2</b>	<b>II-3</b>
<b>Sesso</b>	M	F	F
<b>Età</b>	14	12	11
<b>Esordio</b>	3	7	3
<b>Deambulazione spastica</b>	++	+	+
<b>ROT vivaci</b>	++	++	+
<b>Ipostenia arti inferiori</b>	+	-	+
<b>Ipotrofia arti inferiori</b>	+	-	-
<b>Ipopallestesia arti inferiori</b>	-	-	-
<b>Segno di Babinski</b>	+	+	+
<b>Disturbi sfinetrici</b>	-	-	-
<b>Alterazioni cognitive</b>	-	-	-

M maschio, F femmina, (-) assente, (+) presente, (++) marcato

Tabella 7: studio delle velocità di conduzione motoria e sensitiva dei pazienti *SPG3A*

Paziente	II-1	II-2	II-3
<i>Nervo mediano</i>			
<i>Gomito-polso</i>			
MCV (m/s)	<b>51.7</b> (56-75)	61.7	61.2
DL (m/s)	<b>7.4</b> (2.3-3.7)	<b>4.25</b>	<b>3.9</b>
CMAP (mV)	19.1 (9-50)	13.15	9.9
<i>III dito-polso</i>			
SCV (m/s)	<b>36.1</b> (55-73)	<b>50.9</b>	<b>46.8</b>
Ampiezza del SAP (µV)	21.5 (7-35)	16.0	14.6
<i>Nervo tibiale</i>			
<i>Fossa poplitea-malleolo mediale</i>			
MCV (m/s)	<b>40.38</b> (45-60)	<b>41.33</b>	<b>41.30</b>
DL (m/s)	<b>9.1</b> (3-4.8)	<b>5.65</b>	<b>5.25</b>
CMAP (mV)	1.9 (6-32)	8.9	<b>5.6</b>
<i>Primo dito-malleolo</i>			
SCV (m/s)	<b>22.73</b> (39-53)	<b>30.03</b>	<b>24.0</b>
Ampiezza del SAP (µV)	1 (0.5-14)	2.2	2.1

MCV: velocità di conduzione motoria; SCV: velocità di conduzione sensitiva; DL: latenza distale; CMAP: potenziale d'azione muscolare composto; SAP: potenziale d'azione sensitivo. I valori normali sono indicati tra parentesi; i dati anormali sono in grassetto.

Tabella 8: caratteristiche cliniche dei pazienti *SPG11*

Famiglia/pz	IT-MPH09	IT-MP-H10	IT-MP-H12	IT-DA-H29	IT-DA-H30	221-013	221-014	221-015	446-011	446-014	386-027	386-030	386-033	386-034	754-026	754-027	754-033
Consanguineità	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Età/sex	25/M	20/F	15/M	32/M	20/F	25/M	25/M	23/M	19/F	12/F	49/F	35/F	31/F	28/F	35/M	43/F	19/M
ESORDIO	18	20	14	16	19	12	23	22	16	12	14	14	13	14	14	17	8
Sintomo all'esordio	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	-	Spast. Tremore	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.	Spast.
Ritardo mentale	IQ72	IQ77	Lieve	IQ67	Lieve	Severo	IQ69	Lieve	Lieve	Lieve	No	Mod.	Lieve	Lieve	Severo	Severo	Moder.
iperROT AI	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si
iperROT AS	Si	Si	No	Si	No	Si	Si	Si	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si	no
disfagia	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si	No	Si	no
Disartria	Si	No	No	No	No	Si	No	No	No	No	Si	Si	Si	Si	Si	Si	si
Segni cerebellari	Lievi	No	No	No	No	No	Si	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Amiotrofia	No	No	No	No	No	Lieve	No	No	Mod. AS e AI	No	Mod. AS e AI	Mod. AS e AI	Mod. AS e AI	No	Mod. AS e AI	Mod. AS e AI	no
Neuropatia periferica	Si	Si	No	Si	ND	ND	Si	ND	Si	ND	Si	Si	Si	ND	Asson.	Si	no
Punteggio clinico	3	3	2	2	2	4	3	3	3	1	6	6	6	6	5	6	3
Ulteriori caratteristiche		Incont. urinaria				Cataratta					Atrofia Ottica				Demen-Za	Demen-za	
RM/TC			ND			ND		Normale		ND		ND	ND	ND		ND	
Atrofia corticale	Si	No		Si	No		Si		Si		Si				Si		No
TCC	Si	Si		Si	Si		Si		Si		Si				Si		Si
Alt. SB PV	Si	Si		Si	Si		Si		Si		Si				ND		ND
Atrofia cerebellare	No	No		No	No		No		No		No				No		No

M maschio, F femmina, spast= spasticità, mod= moderato, AI arti inferiori, AS arti superiori, RM risonanza magnetica, TC tomografia computerizzata, TCC thin corpus callosum, alt. SB PV alterazioni sostanza bianca periventricolare, ND non praticato; il punteggio di severità clinica è stato attribuito mediante una versione modificata della scala di Asworth.

Tabella 9. Caratteristiche cliniche del gruppo di pazienti HSP sottoposti a test neuropsicologici.

Soggetti	Sesso	Età	Forma genetica	Età d'esordio	Anni di malattia	Gravità deficit motorio
DM	M	50	<i>SPG7</i>	28	22	3
DV	M	53	<i>SPG7</i>	28	25	3
SA	F	25	<i>SPG5</i>	5	20	2
SM	M	56	<i>SPG5</i>	7	49	1
San	M	48	<i>SPG5</i>	4	44	2
PS	M	41	<i>SPG4</i>	30	12	1
RA	M	61	<i>SPG4</i>	30	31	3
ME	M	49	<i>SPG4</i>	35	14	1
DSA	M	25	<i>SPG4</i>	20	5	1
CS	F	49	<i>SPG4</i>	44	5	1
CC	M	62	<i>SPG4</i>	39	14	2
CM	F	27	<i>SPG4</i>	26	1	1
CL	M	42	<i>SPG4</i>	1	41	2
BA	M	58	<i>SPG4</i>	30	28	1
FO	F	29	<i>SPG3</i>	7	24	1
FM	F	28	<i>SPG3</i>	3	25	1

La valutazione del deficit motorio si basa su una classificazione clinica in quattro categorie:

1=andatura senza appoggio; 2=saltuario appoggio; 3=costante appoggio; 4=sedia a rotelle

Tabella 10. Caratteristiche cliniche, strumentali e neuropsicologiche dei pazienti *SPG7*

	DV	DM
Età	53	50
Esordio	28	28
Deambulazione	Spastica con sostegno costante	Spastica con sostegno costante
Spasticità	++	++
Iperreflessia OT	++	++
Ipotrofia muscolare arti inf.	+	+
Disartria	-	+
RM encefalo	Normale	Atrofia cerebellare
Altri segni	Malformazione cardiaca, ipoacusia, bassi livelli plasmatici di LH e DHEA-S	Crampo dello scrivano, ipoacusia, bassi livelli di LH, FSH e DHEA-S
Matrici di Raven	31	28
Fluenza Verbale	10.5**	22
Stroop Test	28.5*	24
WCST	98*	128*
Tc99-SPECT cerebrale	Ipoperfusione frontale	Ipoperfusione frontale

+ presente, ++ marcato, - assente; \*deficitario,\*\* borderline



Tabella 11. Punteggi dei pazienti e del gruppo di controllo alla batteria di test generali

	CONTROLLI		PAZIENTI	
	Media	DS	Media	DS
MMSE	28,07	1,981	27,75	2,295
Corsi	4,87	0,743	4,94	0,998
Verbale	4,47	0,990	4,00	0,730
Rey imm.	46,13	9,195	39,81	10,075
Rey diff.	10,40	2,667	8,69	3,092
Mem.Prosa	10,853	5,0893	10,507	4,1234
Raven	26,87	6,999	28,19	5,741
A.C.	12,00	1,732	11,75	1,342
Fluenza S.	19,23	3,871	19,77	5,558
Rey copia	28,10	7,207	28,44	7,705
Rey memoria	12,46	8,381	13,70	7,275
Giudizi Verbali	42,80	10,037	41,80	9,010

Tabella 12. Punteggi dei pazienti e del gruppo di controllo ai test esecutivi

	CONTROLLI		PAZIENTI	
	Media	DS	Media	DS
Stroop T	21,79	14,145	25,38	13,868
Stroop E	0,37	1,026	2,44	4,155
Trail A	47,21	28,770	61,00	74,216
Trail B	130,36	70,730	141,36	83,704
Trail B-A	83,14	47,923	80,36	43,699
WCST G.	72,60	35,238	100,37	31,644
WCST P.	29,20	23,128	30,50	26,230
WCST N-P.	17,67	13,108	23,38	19,407
WCST F.	1,27	0,961	2,38	1,962

Tabella 13. Punteggi dei pazienti e del gruppo di controllo alla Teradic

	CONTROLLI		PAZIENTI	
	Media	DS	Media	DS
Dimensioni rette	16,00	1,961	15,50	2,733
Orientamento rette	7,29	1,729	6,94	1,731
Grandezza angoli	4,64	2,341	4,94	1,569
Posizione punti	10,64	1,216	11,00	1,366
Rotazioni mentali	7,36	2,468	7,94	2,144
Identificazione Figure	9,36	0,929	8,81	1,642
Figure nascoste	7,21	2,424	6,81	2,373
Costruzioni mentali	17,00	4,350	17,25	4,494

Tabella 14. Punteggi dei pazienti con *SPG4* e dei pazienti con le altre forme alle prove neuropsicologiche

	<i>SPG4</i>		ALTRI	
	Media	DS	Media	DS
MMSE	28,00	1,732	27,43	2,992
Corsi	4,67	0,707	5,29	1,254
Verbale	4,00	0,707	4,00	0,816
Rey imm.	37,22	6,119	43,14	13,447
Rey diff.	7,56	2,242	10,14	3,579
Mem.Prosa	10,837	4,8580	10,129	3,4389
Raven	29,22	4,738	26,86	6,986
A.C.	11,44	1,236	12,14	1,464
Fluenza S.	18,36	4,310	21,57	6,759
Rey copia	28,72	9,223	28,07	5,891
Rey memoria	14,94	7,671	11,83	6,861
Giudizi Verbali	40,75	9,498	43,00	9,000
Stroop T	27,39	16,981	22,79	9,078
Stroop E	1,61	2,162	3,50	5,881
Trail A	41,12	19,817	87,50	110,889
Trail B	130,63	60,893	155,67	112,230
Trail B-A	89,50	50,299	68,17	33,331
WCST G.	98,67	28,249	102,57	37,806
WCST P.	25,56	12,680	36,86	37,707
WCST N-P.	25,00	19,092	21,29	21,132
WCST F.	2,67	1,871	2,00	2,160
Dimensioni rette	14,78	2,438	16,43	2,992
Orientamento rette	6,89	1,764	7,00	1,826
Grandezza angoli	5,11	1,900	4,71	1,113
Posizione punti	11,44	1,014	10,43	1,618
Rotazioni mentali	8,33	1,658	7,43	2,699
Identificazione Figure	8,56	2,068	9,14	0,900
Figure nascoste	6,33	2,646	7,43	1,988
Costruzioni mentali	18,11	2,934	16,14	6,040

Tabella 15. Correlazione ( $r$  di Pearson) tra i punteggi ai test neuropsicologici e età d'esordio, durata di malattia e gravità del deficit motorio (n pazienti= 16)

	Età d'esordio $r$	Durata di malattia $r$	Gravità $r$
Corsi	-,415	,127	,052
Verbale	,049	-,203	,226
Rey imm.	-,324	-,274	-,091
Rey diff.	-,200	-,373	-,130
Mem.Prosa	-,328	-,156	-,402
Raven	,195	-,493	,247
A.C.	-,434	,128	-,154
Fluenza S.	-,601(*)	-,030	-,099
Rey copia	,290	-,596(*)	,098
Rey memoria	,438	-,720(**)	-,126
Giudizi Verbali	-,263	-,248	-,078
Stroop T	,195	,135	,088
Stroop E	-,113	,470	,072
Trail A	-,206	,549	-,071
Trail B	,006	,356	-,003
Trail B-A	,360	-,248	,115
WCST G.	,282	,056	,071
WCST P.	,326	-,085	,470
WCST N-P.	,114	,341	,039
WCST F.	,049	,096	,095
Dimensioni rette	-,322	,030	-,605(*)
Orientamento rette	,023	,030	,364
Grandezza angoli	-,126	-,219	,244
Posizione punti	,206	-,412	,121
Rotazioni mentali	,159	-,327	,140
Identificazione Figure	-,246	,018	-,258
Figure nascoste	-,559(*)	-,022	,170
Costruzioni mentali	,141	-,550(*)	,101

\* correlazione significativa a 0.05;\*\* correlazione significativa a 0.01

Tabella 16. Criteri del Consensus per la diagnosi di MSA

### **I. Disfunzione autonoma e urinaria**

#### *A. Caratteristiche*

1. Ipotensione ortostatica (calo di 20 mmHg della sistolica o 10 mmHg della diastolica)
2. Incontinenza urinaria o incompleto svuotamento vescicale

#### *B. Criteri*

Caduta ortostatica della pressione arteriosa (30 mm Hg della sistolica o 15 mmHg della diastolica) o incontinenza urinaria (persistente involontario parziale o totale svuotamento vescicale, accompagnato da disfunzione erettile nell'uomo) o entrambi

### **II. Parkinsonismo**

#### *A. Caratteristiche*

1. Bradicinesia
2. Rigidità
3. Instabilità posturale
4. Tremore (posturale, a riposo o entrambi)

#### *B. Criteri*

Bradicinesia associata ad almeno una delle caratteristiche 2-4

### **III. Disfunzione cerebellare**

#### *A. Caratteristiche*

1. Atassia della marcia
2. Disartria
3. Atassia degli arti
4. Nistagmo

#### *B. Criteri*

Atassia della marcia associata ad almeno una delle caratteristiche 2-4

### **IV. Disfunzione cortico-spinale**

#### *A. Caratteristiche*

1. Risposta plantare estensoria con iper-reflessia

#### *B. Criteri*

Disfunzione del tratto cortico-spinale in MSA: non ci sono caratteristiche del tratto cortico-spinale per la definizione della diagnosi di MSA

---

**I. MSA possibile:** un criterio+due caratteristiche da altri due domini separati; quando il criterio è il parkinsonismo, una scarsa risposta alla levodopa rappresenta una caratteristica (è quindi richiesta una caratteristica addizionale)

**II. MSA probabile:** criterio per la disfunzione autonoma o la disfunzione urinaria + un parkinsonismo scarsamente responsivo alla levodopa o disfunzione cerebellare

**III. MSA definita:** confermata patologicamente dalla presenza di un'alta densità di inclusioni gliali citoplasmatiche in associazione con una combinazione di cambi degenerativi nei pathway nigrostriatali ed olivopontocerebellari

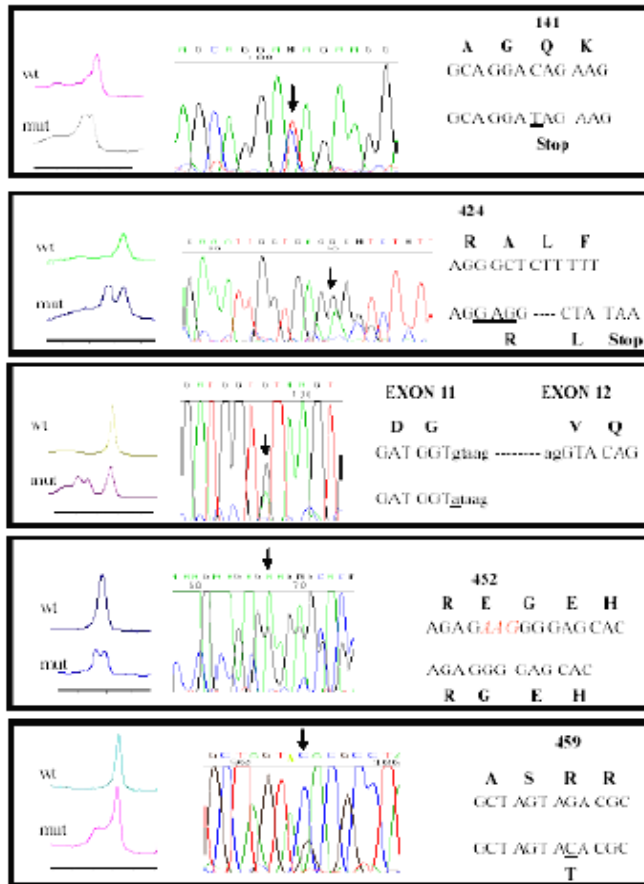
Tabella 17. Caratteristiche cliniche e strumentali della popolazione di atassici sottoposti a screening per premutazione in *FMRI*

						N (%)			RM encefalo* N (%)						DAT N (%)	
	N	M	F	Onset	Age	Pyr	Expyr	Auto	tot	A	B	H**	Pu**	tot	P	N
Tot	82	44	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Data-set compl.	53	28	25	50.6±11.9	60.3±14.2	38 (71.7)	15 (28.3)	29 (54.7)	42	40 (95.2)	15 (35.7)	12 (30)	2 (4.8)	15	10 (66.7)	5 (33.3)
tot MSA	16	5	11	53.7±10	60±10	16 (100)	12 (75)	15 (93.7)	13	13 (100)	6 (46.2)	6 (46.2)	2 (15.4)	9	9 (100)	0 (0)
poss-MSA	5	2	3	59.4±9.1	65±9.4	5 (100)	5 (100)	4 (80)	4	4 (100)	2 (50)	3 (75)	0 (0)	2	2 (100)	0 (0)
prob-MSA	11	3	8	51.2±9.7	58.4±10	11 (100)	7 (63.6)	11 (100)	9	9 (100)	4 (44.4)	3 (33.3)	2 (22.2)	7	7 (100)	0 (0)
ILOCA	37	23	14	49.2±12.5	62.1±12.1	22 (59.5)	3 (8.1)	14 (37.8)	29	27 (93.1)	9 (31)	6 (22.2)	0 (0)	6	1 (16.7)	5 (83.3)
Data-set incompl.	29	16	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*Immagini di RM revisionate

\*\*caratteristiche associate con A o con AB

Pyr= segni piramidali; Expyr= segni extrapiramidali; Auto= coinvolgimento autonomico; A= atrofia cerebellare; B= atrofia del troncoencefalo; H= segno della 'croce'; Pu= iperintensità putaminale; P= patologico; N= normale; NP= non praticato





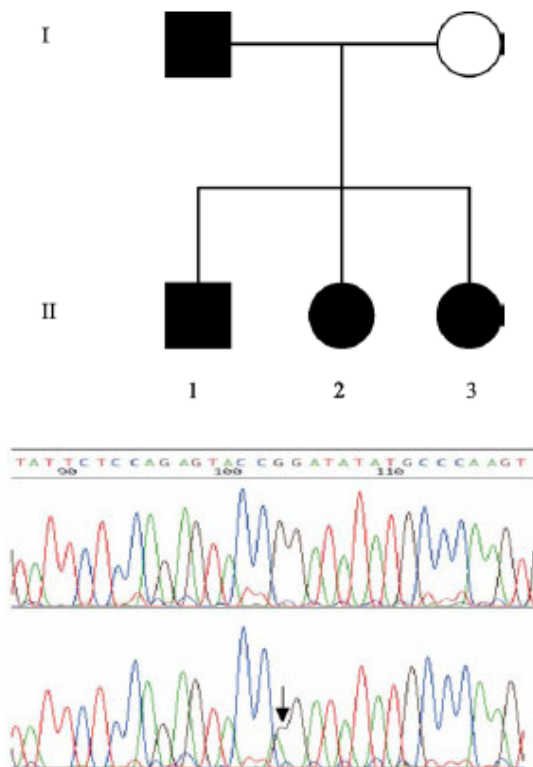


Figura 2: Pedigree della famiglia *SPG3A*; elettroferogramma della sequenza fiancheggiante la nuova mutazione R495W di atlastina; la sequenza di un controllo normale è in alto e quella del paziente I-2 in basso; le frecce indicano la mutazione.